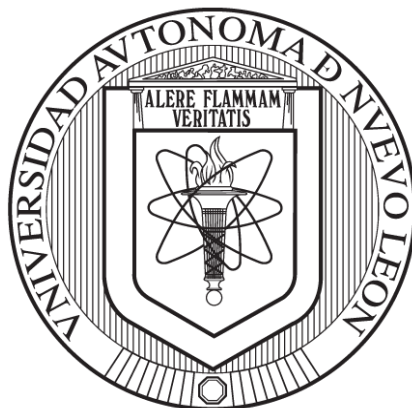


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**“SÍNTESIS DE COMPUESTOS ORGANOBORO Y SU APLICACIÓN
COMO ROTOR MOLECULAR FLUORESCENTE:
VISCOCROMISMO Y TINCIÓN CELULAR”**

POR:

M.C. JESÚS ALFREDO LARA CERÓN

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO EN
DOCTORADO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA
DE LOS MATERIALES**

18 de Noviembre del 2020

**“Síntesis de compuestos organoboro y su aplicación como rotor molecular
fluorescente: viscocromismo y tinción celular”**

Aprobación de Tesis:

Dra. Blanca M. Muñoz Flores

Presidente

Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro

Secretario

Dr. Luis Ángel Garza Rodríguez

Vocal

Dr. José Norberto Farfán García

Vocal

Dra. Yliana López Castro

Vocal

**“Síntesis de compuestos organoboro y su aplicación como rotor molecular
fluorescente: viscocromismo y tinción celular”**

Revisión de Tesis:

Dra. Blanca M. Muñoz Flores

Directora de Tesis

Dr. Luis Ángel Garza Rodríguez

Comité de Tesis

Dr. Rodrigo Alonso Chan Navarro

Comité de Tesis

Dr. Eduardo Maximiliano Sánchez Cervantes

Comité de Tesis

Dra. María Elena Cantú Cárdenas

Sub-Directora de Posgrado

RESUMEN

M. C. Jesús Alfredo Lara Cerón

Fecha de graduación: 18 de Noviembre del 2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: Síntesis de compuestos organoboro y su aplicación como rotor molecular fluorescente: viscocromismo y tinción celular.

Número de páginas: 73

**Candidato para el grado en Doctorado en Ciencias
con Orientación en Química de los Materiales.**

Área de estudio: Química de los Materiales

Propósito y método de estudio: El presente trabajo está centrado en la síntesis y caracterización espectroscópica, espectrométrica y óptica de una serie de compuestos boro derivados de bases de Schiff con aminoácidos, los cuales serán aplicados como rotor molecular fluorescente (RMF) en mezclas de diferente relación de metanol y glicerol para proveer ambientes de diferente viscosidad, con el objetivo de observar un incremento en la intensidad de fluorescencia respecto al aumento de viscosidad. Además de ser aplicados como marcador celular en células *in vitro* y visualizados con ayuda de microscopia confocal.

Conclusiones y contribuciones: Se realizó la síntesis asistida por ultrasonido de los compuestos de boro, reduciendo el tiempo de reacción en comparación a reportes previos. Se encontró que el compuesto **2** derivado del triptófano puede actuar como RMF altamente sensitivo, al aumentar hasta 100 veces el valor de rendimiento cuántico en medios de alta viscosidad, hasta nuestro conocimiento no existe un RMF con tal capacidad de contraste de fluorescencia. Mediante cálculos DFT, se propone el mecanismo por el cual este compuesto presenta la capacidad de aumentar la intensidad de fluorescencia frente a la viscosidad. Además, se encontró que los compuestos de boro derivados de aminoácidos pueden teñir

selectivamente el nucleolo en células B16F10, lo que resulta prometedor para ser aplicados en el área biomédica, debido a la importancia de la identificación y comprensión de los procesos bioquímicos que ocurren dentro de los nucléolos, como la transcripción del ARN y la producción y ensamblaje de ribosomas.

FIRMA DEL ASESOR:

Dra. Blanca M. Muñoz Flores

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Materiales III, en el área de posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección de la Dra. Blanca M. Muñoz Flores.

Este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) 487666.

Índice

1. Introducción.....	2
2. Antecedentes.....	7
2.1 Compuestos de boro como RMFs y su aplicación en la obtención de bioimágenes fluorescente.....	7
2.1.1 BODIPYs	7
2.1.2 Dioxaborinos	10
2.1.3 BOSCHIBAs	13
2.2 Síntesis por ultrasonido de bases de Schiff y sus compuestos de coordinación.	14
3. Hipótesis y Objetivos	19
3.1 Hipótesis	19
3.2 Objetivo General.....	19
3.2.1 Objetivos específicos.....	19
4.1 Reactivos y equipos	21
4.2 Síntesis General	21
Síntesis específica	23
5.4 Caracterización	29
5.4.1 Difracción de rayos X de monocristal (DRX).....	29
5.4.2 Resonancia magnética nuclear (RMN).	30
5.4.3 Espectrometría de masas.	30
5.4.4 Caracterización fotofísica.....	30
5.4.5 Métodos computacionales	31
6.1 Síntesis	34
6.2 Difracción de rayos X de monocristal	34
6.3 Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	44
6.4 Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR).	48
6.4 Propiedades fotofísicas	50
6.4.1 Espectroscopia UV-Vis	50
6.4.2 Espectroscopia de fluorescencia.....	51
6.5 Química computacional	52
6.6 Evaluación como rotor molecular fluorescente	56
6.6.1 Evaluación teórica	57
6.6.2 Evaluación experimental. Ensayos de viscosidad y explicación mediante DFT.	59

6.7 Viabilidad celular.....	63
6.8 Obtención de bioimágenes fluorescentes.....	64
Conclusiones	66
Artículos publicados	67
Referencias.....	68

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

Los Rotores Moleculares Fluorescentes (RMFs) son moléculas con libre rotación o movilidad, que conforme su rotación es restringida su intensidad de fluorescencia se incrementa. Algunas rutas, de carácter intramolecular, para detener o frenar la rotación de los grupos rotores son mediante interacciones de puente de hidrógeno, a través de impedimento estérico o por la formación de complejos estables con iones metálicos, sin embargo, en estos casos las moléculas sufren una modificación estructural al compuesto de partida.

Por otro lado, existe la alternativa de restringir de forma externa la rotación molecular, mediante la creación de un microambiente de alta viscosidad. Los RMFs pueden exhibir una variación de la intensidad de fluorescencia causado por variaciones en la viscosidad del medio. Es importante señalar que la viscosidad es una propiedad fundamental de los medios fluidos y, por lo tanto, evaluar la viscosidad en diversos entornos utilizando RMFs es un área atractiva de la investigación con numerosas aplicaciones en química, biología y medicina moderna.

Dentro de las aplicaciones biológicas, la viscosidad celular es un factor crítico que rige los procesos celulares mediados por difusión.¹ Influye fuertemente en las interacciones entre las biomoléculas, el transporte intracelular de masa y señales dentro de las células vivas y, en consecuencia, los cambios anormales en la viscosidad celular están relacionados con muchas enfermedades y disfunciones.²⁻⁴ El aumento de la viscosidad intracelular está asociado con la apoptosis, mientras que la disminución de la viscosidad intracelular predispone al cáncer.⁵ Por lo tanto, el monitoreo de la viscosidad intracelular sería importante para comprender los efectos patológicos asociados con los niveles anormales de viscosidad en los sistemas vivos.

En la literatura, se ha informado de una serie de rotores moleculares para controlar los cambios de viscosidad en los sistemas celulares, la detección de proteínas, nucleótidos, enzimas, lípidos, etc.⁶⁻¹⁵ Sin embargo, hasta la fecha no se ha reportado sobre la utilización de rotores moleculares para distinguir entre cáncer, células normales y apoptóticas. La mayoría de los RMFs informados se basan en compuestos de boro del tipo BODIPY y dioxaborinos, debido a sus buenas propiedades fotofísicas, su naturaleza no tóxica y su fácil

permeabilidad celular.^{16,17} Sin embargo, estas sondas carecen de un sistema conjugado donante-receptor adecuado, que es el requisito previo para que una molécula actúe como un rotor molecular eficiente y, por lo tanto, no puede detectar una viscosidad ultrabaja.¹⁸ Además, estas sondas tienen un alcance limitado en los sistemas biológicos, ya que solo pueden detectar cambios de viscosidad en células muertas, membranas altamente viscosas, etc.¹⁹

Por otro lado, la obtención de alto rendimiento cuántico de fluorescencia y alta habilidad de contraste es una característica muy difícil de conseguir en los RMFs, debido a que, en muchos casos las moléculas con alto rendimiento cuántico tienen pobre capacidad de contraste, es decir, aumentan pocas veces la intensidad de fluorescencia en diferentes viscosidades.²⁰ Por lo tanto, el monitoreo de los cambios dinámicos de viscosidad en las células vivas durante condiciones patológicas como cáncer, apoptosis, etc. se ha visto obstaculizado por la falta de rotores moleculares sensibles y eficientes (Figura 1). Actualmente, se han propuesto varias estrategias sobre RMFs para crear sondas fluorescentes altamente sensitivas, por ejemplo, incorporando grupos rotacionales asimétricos,²¹ rotores con alta habilidad rotacional,²¹ variando sistemas π -conjugados *push-pull*,²² mediante la aplicación de rotores bi- o triméricos,^{23,24} y la introducción de dos rotores con diferentes habilidades rotacionales y electrodonantes.²⁵

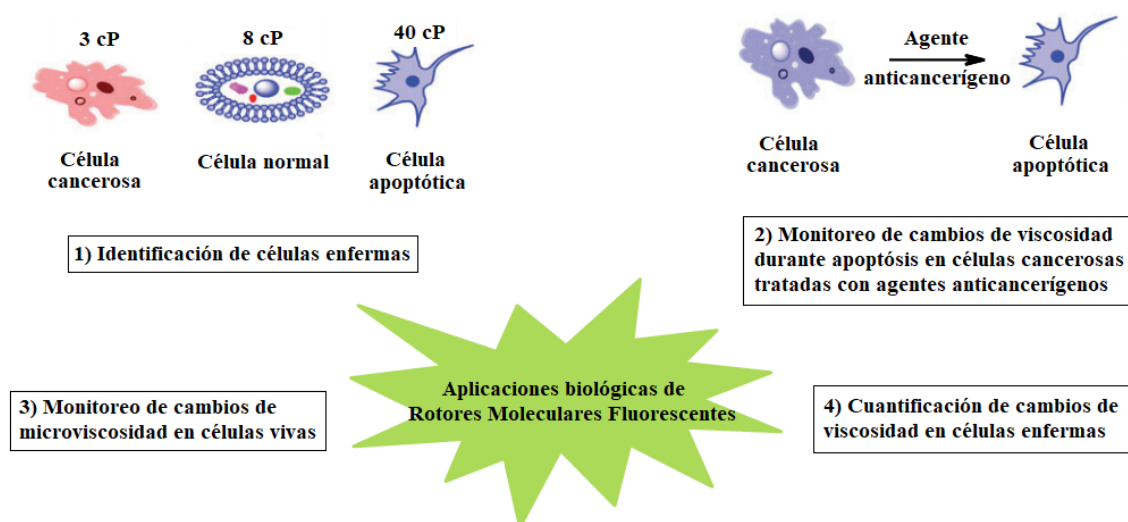


Figura 1. Aplicaciones celulares de rotores moleculares fluorescentes.¹⁸

Otras limitaciones de los rotores moleculares actuales es que presentan una extinción de la fluorescencia en solución o que en algunos casos la obtención de las sondas fluorescentes demanda una síntesis complicada o en múltiples pasos.²¹ Como es el caso de los BODIPY o dioxaborinos, en los cuales para su síntesis se requieren atmósferas anhidras y una serie de etapas de síntesis para llegar a la molécula objetivo.

En este contexto, actualmente la comunidad científica está preocupada en la producción de materiales funcionales a través de una síntesis sustentable, minimizando el uso de disolventes orgánicos, síntesis multicomponentes, reduciendo subproductos de reacción y empleando métodos de síntesis verdes, tales como las microondas, mecanoquímica y síntesis asistida por ultrasonido. En particular la síntesis por ultrasonido resulta de gran interés debido a que se ha reportado que se requiere equipo de bajo costo, bajo consumo energético y se reduce drásticamente el tiempo de reacción, se obtienen altos rendimientos químicos, comparado con otros métodos de síntesis.

Además del empleo de una técnica de síntesis sustentable, es necesario llevar a cabo reacciones químicas que formen productos de gran interés y sean competitivos a los requerimientos en las distintas aplicaciones de la ciencia, evitando síntesis en múltiples pasos y condiciones especiales que dificulten su manejo o sean un riesgo para la salud y el medio ambiente. Un ejemplo de compuestos que cumplen con este principio son las iminas o bases de Schiff, nombradas así en honor a Hugo Schiff, las cuales han sido muy estudiados debido a la gran variedad de aldehídos y aminas que existen, dando como resultado una amplia gama de iminas, teniendo como único subproducto la formación de agua. Estas bases de Schiff han sido empleadas como ligantes bi- y tridentados para la formación de compuestos de coordinación con iones metálicos, los cuales son moléculas de gran interés debido a su estabilidad, propiedades fotofísicas, rápida preparación, aplicaciones biológicas, entre otros.

Dentro de estos compuestos de coordinación destacan los compuestos de boro derivados de bases de Schiff (BOSCHIBAs, por sus siglas en inglés), los cuales han mostrado ser moléculas de fácil obtención, no tóxicas y con atractivas propiedades fotofísicas, además de presentar multirespuesta a diferentes estímulos, por ejemplo, temperatura, pH, presión, solvatocromismo y viscosidad.^{26,27} Los BOSCHIBAs evaluados como RMFs presentan una gran capacidad de contraste de fluorescencia, aumentado hasta 34 veces su rendimiento

cuántico en medios de alta viscosidad.²⁶ Cabe señalar que los RMFs más sensitivos de los últimos cinco años derivados de BODIPYs y dioxaborinos reportan aumentos de 11.7 y 22.3 veces, respectivamente. Sin embargo, los RMFs derivados de BOSCHIBAs empleados como marcador celular no han presentado las características óptimas de solubilidad y permeabilidad.

Por lo cual en el presente trabajo se explorarán nuevos BOSCHIBAs derivados de aminoácidos, los cuales podrían aportar avances para resolver las limitaciones actuales en el monitoreo de la viscosidad celular a través de la obtención de bioimágenes fluorescentes. Se ha demostrado que los aminoácidos son un interesante grupo de moléculas bioactivas,²⁸ ya que la incorporación de la quiralidad mejora la distribución, la interacción con el receptor y la absorción celular de los compuestos.²⁹ Se emplearan los aminoácidos *L*-triptófano, *L*-tirosina y *L*-fenilalanina, los cuales además de proveer quiralidad poseen aromaticidad, y por consiguiente podría mejorar las propiedades fotofísicas de los compuestos de boro,³⁰ sin embargo, se tendrá como control el aminoácido glicina, el cual carece de quiralidad y de sistema conjugado de electrones.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2. Antecedentes

2.1 Compuestos de boro como RMFs y su aplicación en la obtención de bioimágenes fluorescente

2.1.1 BODIPYs

Derivados de BODIPYs *meso*-fenil sustituidos han sido ampliamente usados para el desarrollo de RMFs como sensor de viscosidad debido a sus altos rendimientos cuánticos de fluorescencia y alta habilidad rotacional de los sustituyentes fenílicos en posición *meso*, como se muestra en la Figura 2. La rotación del enlace simple C-C entre el grupo fenilo y el núcleo BODIPY afecta la relajación no radiativa. En medios de baja viscosidad, la rotación resulta en decaimientos no radiativos, resultando en una débil intensidad de fluorescencia. En contraste, cuando la rotación es restringida en medios de alta viscosidad, los rotores basados en BODIPYs emiten fuerte intensidad de fluorescencia. Las características de los RMFs basados en BODIPY pueden ser modificadas vía sustitución química del núcleo BODIPY o el grupo *meso*-fenil.

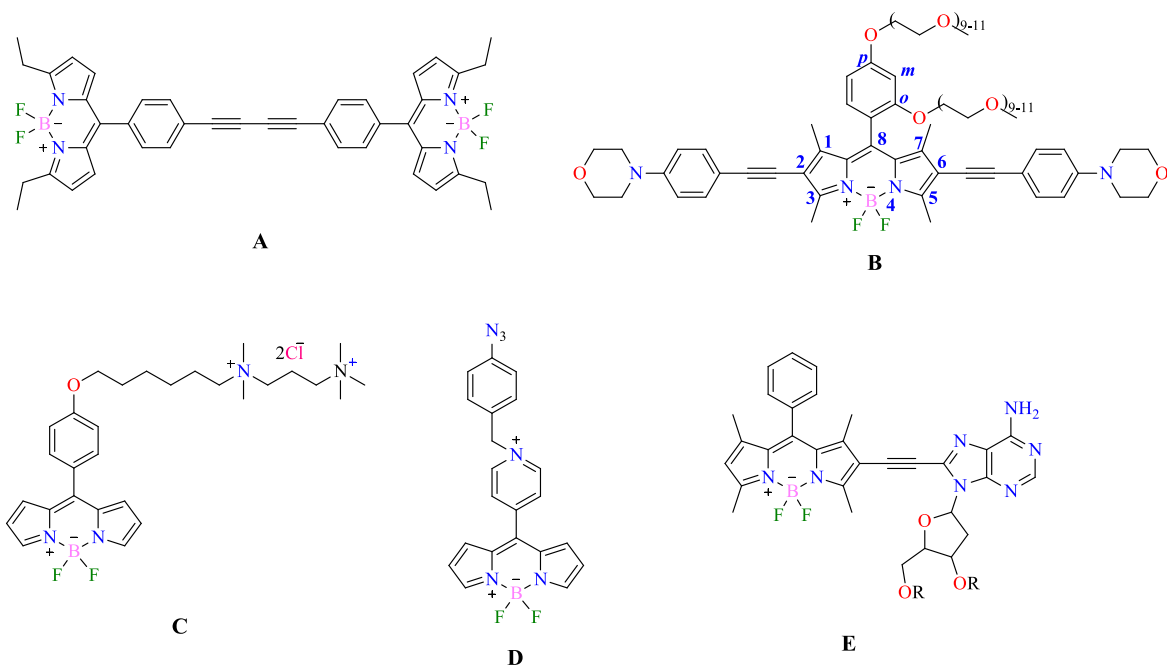


Figura 2. RMF derivados de BODIPYs.

La rotación de los grupos *meso*-fenil a través del enlace C-C es restringido por los sustituyentes en posición 1 y 7 del núcleo BODIPY o en posición *orto* del grupo fenílico. Cuando la viscosidad del medio aumenta, los RMFs basados en BODIPYs exhiben aumento del rendimiento cuántico y tiempo de vida de fluorescencia.

Como se mencionó anteriormente, la medición de la viscosidad a nivel celular es un punto crítico debido a que no existen herramientas suficientes para la detección en variaciones de viscosidad muy pequeñas. En este tema en específico, rotores fluorescentes especialmente del tipo BODIPY, han sido bien establecidos como viscómetros para la medición de viscosidad en muchos sistemas biológicos. Por ejemplo, Xiao y colaboradores sintetizaron **Lyso-V**, el cual está basado en la estructura típica del segmento BODIPY, y por primera vez esta molécula realizó la cuantificación en tiempo real de la viscosidad lisosomal en células vivas a través de microscopia de imagen de tiempo de vida de fluorescencia (FLIM, por sus siglas en inglés) (Figura 3).³¹ Basados en el diseño de **Lyso-V**, otros autores han incorporado grupos funcionales en su estructura y comprobado que, con la elevación de la viscosidad lisosomal, la intensidad de fluorescencia también aumenta.³² A partir de estos trabajos seminales, recientemente han reportado la síntesis y aplicación de un RMF tipo BODIPY sensitivo, estable, soluble en agua y con la propiedad para detectar cambios en la viscosidad lisosomal a través de imágenes de microscopia de dos fotones. Este RMF basado en BODIPY y con la integración de segmentos de morfolina resulta prometedor para su aplicación en farmacología debido a la detección exitosa en tiempo real de variaciones en viscosidad lisosomal.³³

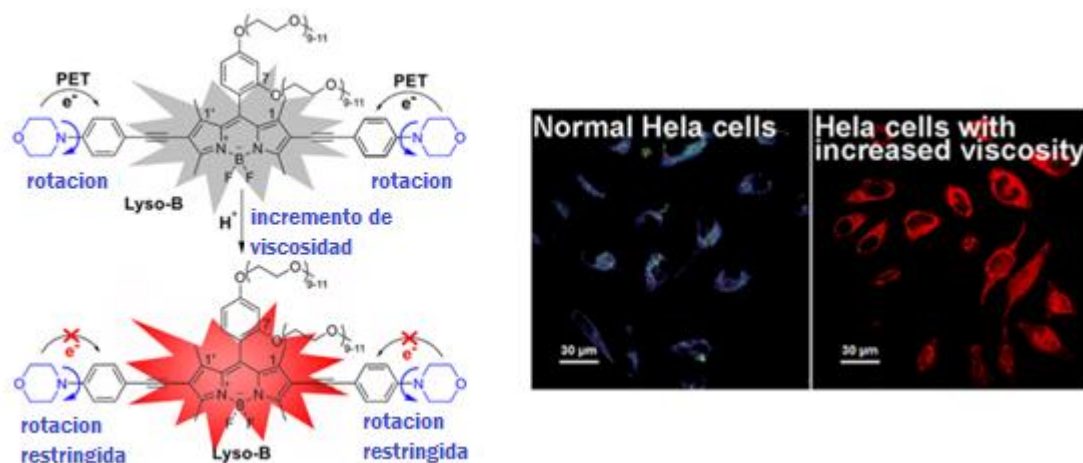


Figura 3. BODIPY empleado para marcar células HeLa. Aumentó de fluorescencia con el incremento de la viscosidad lisosomal.³³

Por otro lado, otro RMF basado en estructura BODIPY ha sido utilizado como viscómetro a nivel celular, basado en los cambios de viscosidad intracelular entre células con cáncer, normales y con apoptosis (Figura 4).¹⁸

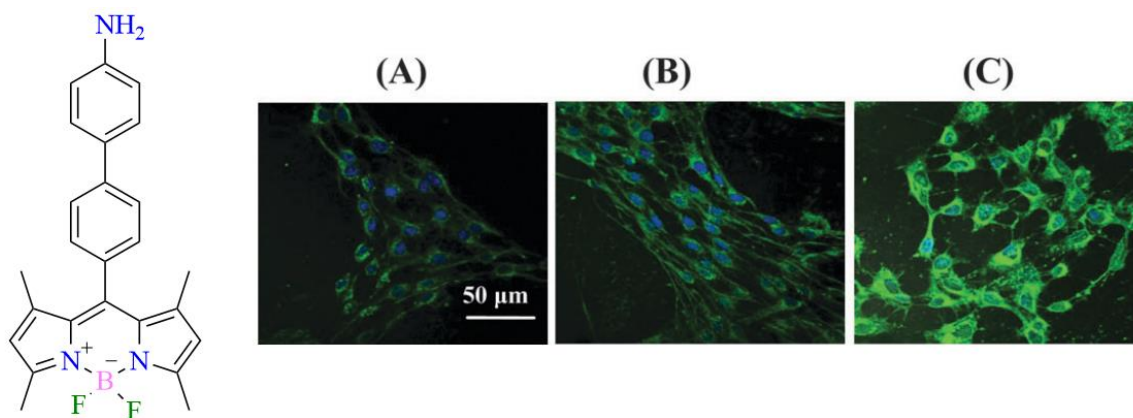


Figura 4. Imágenes de microscopio confocal de la expresión del sensor en células de glioma C6. (A) Células con cáncer, (B) células normales y (C) células con apoptosis.¹⁸

Además, los autores describen las aplicaciones prácticas de este rotor BODIPY como un biosensor para identificar células enfermas entre células normales usando células gliales C6. Además, describen la estrategia de monitoreo de cambios de viscosidad en células por conversión de células con cáncer a células normales y apoptóticas, lo cual ayuda a identificar desordenes y enfermedades en sistemas vivos (Figura 5). De forma resaltante este RMF es aplicado para la cuantificación en tiempo real de cambios de viscosidad intracelular durante

el proceso de apoptosis en células vivas, esto con el uso de imagen de tiempo de vida de fluorescencia (FLIM).

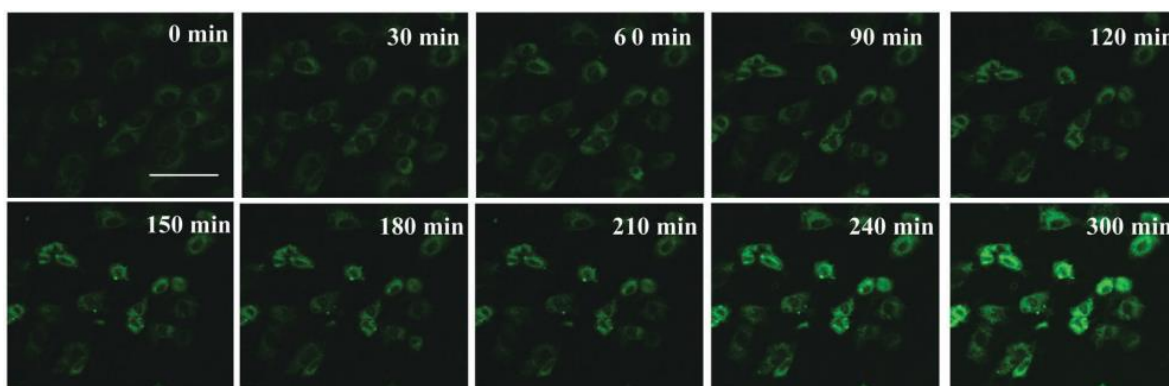


Figura 5. Imágenes de fluorescencia del monitoreo del proceso de apoptosis en células normales de glioma C6.¹⁸

2.1.2 Dioxaborinos

De forma similar a los BODIPYs que consisten en la unión del átomo de boro con dos átomos de nitrógeno, los RMFs basados en dioxaborinos consisten en la unión del boro con átomos de oxígeno ceto y enol (Figura 6). Los RMFs basados en dioxaborinos exhiben alto contraste de fluorescencia y la intensidad de fluorescencia aumenta en solventes polares. En particular, los dioxaborinos tienen altos coeficientes de extinción molar, alto rendimiento cuántico de fluorescencia y emisión de fluorescencia en el rango espectral del rojo y rojo lejano.³⁴

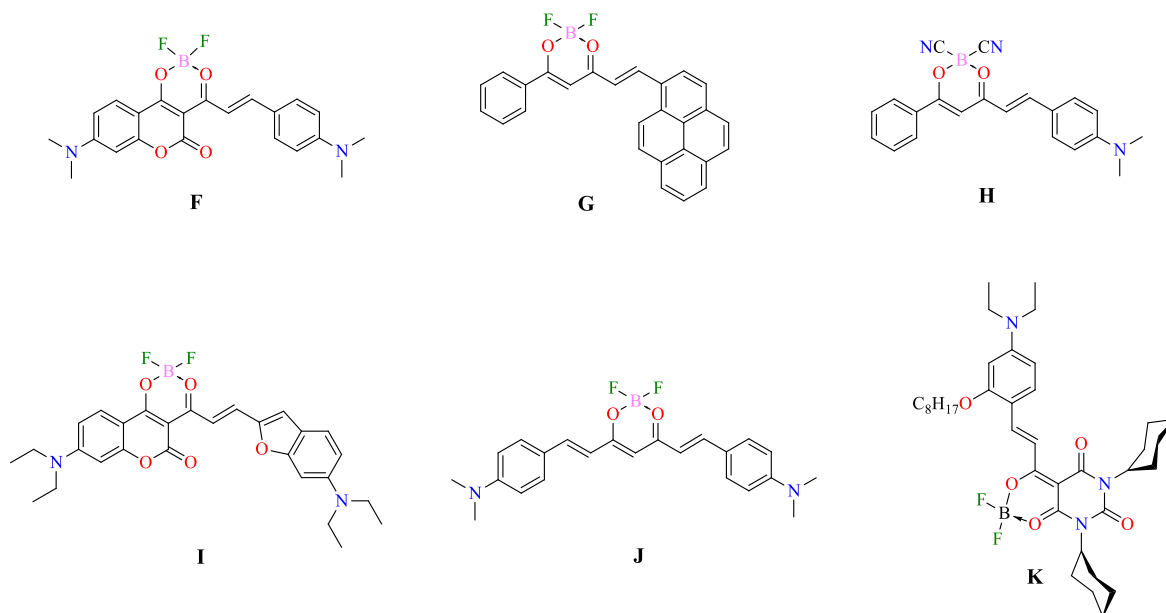


Figura 6. RMFs derivados de dioxaborinos.

Así como los BODIPYs, los compuestos derivados de los dioxaborinos han sido empleados para la obtención de imágenes fluorescentes en células. Chen y colaboradores han reportado la síntesis de una serie de dioxaborinos con buenas propiedades ópticas, tal como emisión en el intervalo del infrarrojo cercano, amplio desplazamiento Stokes y solvatocromismo, y además con baja citotoxicidad, lo cual permitió la tinción selectiva de citoplasma en células HeLa (Figura 7).³⁵

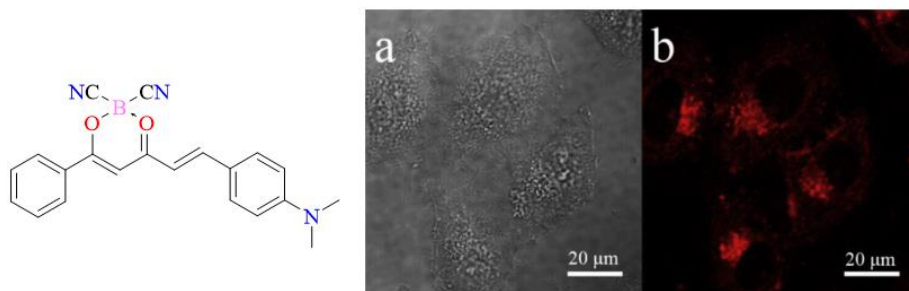


Figura 7. Imágenes de microscopía confocal de células HeLa tratadas con un derivado dioxaborino.³⁵

Del mismo modo Klymchenko *et al.*, han sintetizado un par de RMFs derivados de dioxaborinos con propiedades de solvatocromismo y sensado de la viscosidad (Figura 8). El rotor molecular **DXB-COOH** mostró la capacidad de aumentar cerca de 22 veces el valor de rendimiento cuántico en medios de alta viscosidad.²² Los autores describen que el

mecanismo responsable de la respuesta a las variaciones de viscosidad es la transferencia de carga intramolecular con torción (TICT, por sus siglas en inglés), que al igual que otros RMFs, se observa en moléculas donador-aceptor excitadas, donde el donador y el aceptor de electrones están unidas por un enlace sencillo. Por otro lado, para la síntesis del rotor molecular fue necesaria una serie de pasos y condiciones de atmósfera específica, lo cual compromete su sustentabilidad (Figura 8).²²

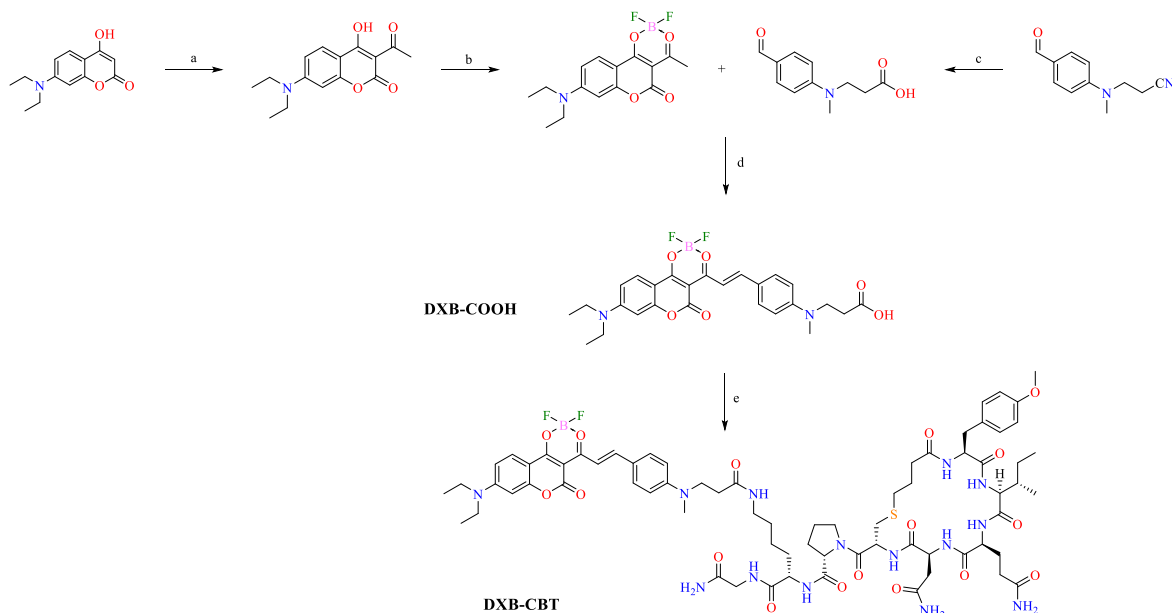


Figura 8. Ruta sintética para la obtención de un RMF derivado de dioxaborinos. a) Py, Ac₂O, 2h, 115°C b) Ac₂O, BF₃—Et₂O, CH₃CN, 85°C, 5 min c) 5M NaOH, 6% H₂O₂, reflujo por 2 h. d) Ac₂O, 100°C, 1 h. e) Lys8-CBT, PyBOP, DIEA, DMF seco, 25°C, 15 min.

En el sitio carboxílico reactivo de **DXB-COOH** fue injertado exitosamente a la carbetocina, una oxitocina acoplada a la proteína G, dando lugar al rotor molecular **DXB-CBT**, el cual mostró un comportamiento solvatocrómico y fue empleado para la obtención de imágenes fluorescentes a través de microscopía confocal. Los datos de microscopía demuestran las excelentes propiedades fluorogénicas del rotor molecular dioxaborino y su alto potencial para la tinción selectiva de membrana en células HEK293T.(Figura 9).²²

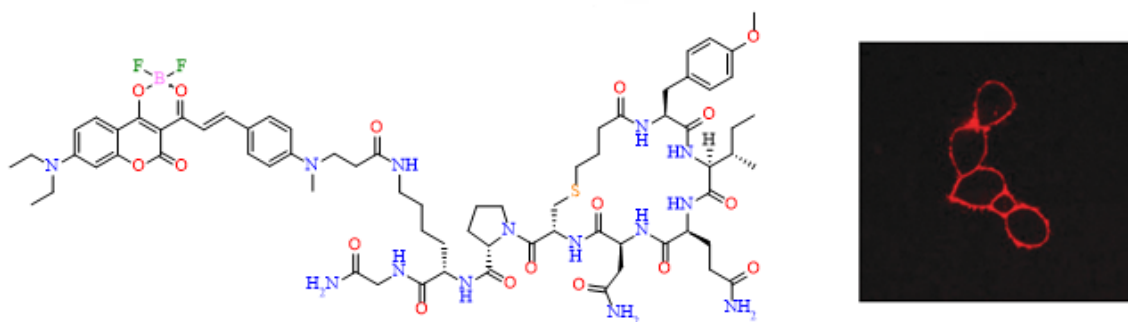


Figura 9. Imagen de microscopia confocal de células HEK293T tratadas con un dioxaborino, tiñiendo selectivamente la membrana celular.²²

2.1.3 BOSCHIBAs

Recientemente se han desarrollado compuestos de boro derivados de bases de Schiff (BOSCHIBAs), los cuales han mostrado grandes propiedades como RMF debido a la capacidad de libre rotación de un fragmento aromático unido al átomo de boro. Ibarra *et al.* en 2017 sintetizaron rotores mono- y binucleares, donde después de realizar un ensayo de viscosidad en medios de diferente fracción MeOH/glicerol, pudo observar un incremento del rendimiento cuántico de hasta 34 veces en un medio de 90% de glicerol.²⁶ Además, obtuvieron bioimágenes fluorescentes en células de melanoma B16F10, sin embargo, la baja solubilidad de los compuestos no permitió una buena penetración del compuesto dentro de las células (Figura 10).²⁶

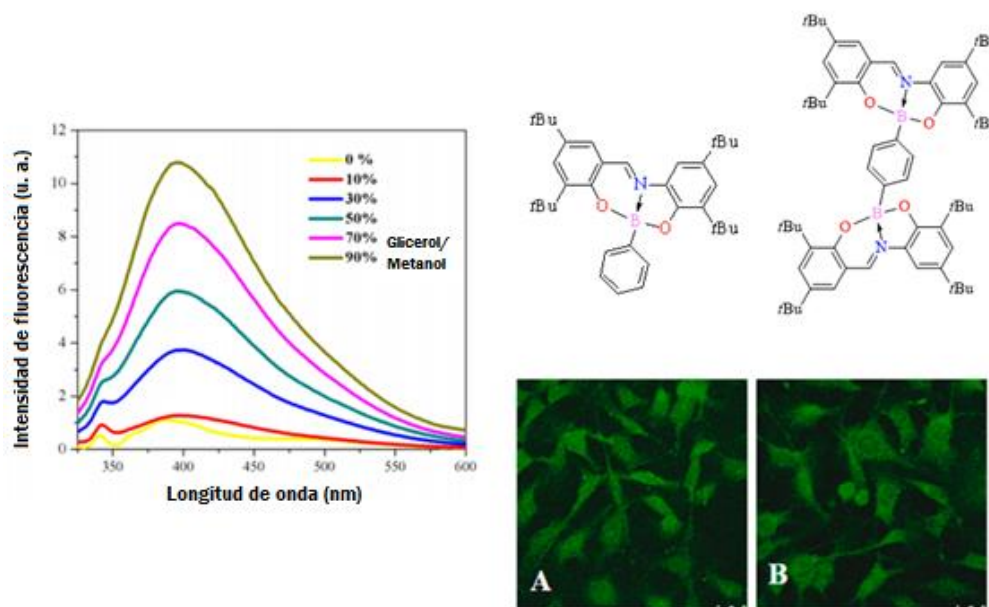


Figura 10. BOSCIBAs empleadas para el sensado de la viscosidad y obtención de biomárgenes fluorescentes en células B16F10.²⁶

Nuevamente Ibarra y colaboradores, en 2019 obtuvieron compuestos binucleares derivados de BOCHIBAs y fueron evaluadas sus propiedades de fluorescencia frente diversos estímulos, dentro de los cuales se resalta el incremento del rendimiento cuántico de hasta 18 veces en medios de alta viscosidad (90% de glicerol).³⁶

Cabe señalar que estos resultados son competitivos con los obtenidos por parte de dioxaborinos y BODIPYs, ya que se encuentran dentro del rango de sensibilidad de las moléculas que actualmente se reportan como RMF, sin mencionar que las BOSCHIBAs se han obtenido en dos pasos, sin condiciones anhidras y con altos rendimientos químicos de reacción. Si bien se han obtenido imágenes fluorescentes de células empleando una serie de BOSCHIBAs, es necesario profundizar las investigaciones en el monitoreo de las variaciones de microviscosidad en células vivas, lo cual tiene una aplicación directa en la biomedicina.

2.2 Síntesis por ultrasonido de bases de Schiff y sus compuestos de coordinación.

Las bases de Schiff o iminas son formadas por la reacción de condensación entre un aldehído o cetona y una amina primaria. Debido a su gran flexibilidad estructural, existen numerosas publicaciones donde reportan su aplicación como ligante bi- y tridentado para la formación de complejos metálicos. En gran medida, la síntesis de bases de Schiff resulta

bastante sencilla, donde por lo general se realiza a reflujo o simple agitación empleando como disolvente etanol o metanol.

Sin embargo, en la actualidad, existen reportes donde se realiza la síntesis de bases de Schiff y sus complejos empleando métodos más eficientes, como son las microondas, mecanoquímica o síntesis asistida por ultrasonido, siendo esta última de gran interés debido a que se requiere equipo de bajo costo, bajo consumo energético y se reduce drásticamente el tiempo de reacción, comparado con otros métodos de síntesis. Por ejemplo, Mermer y colaboradores, han reportado la síntesis por ultrasonido de bases de Schiff empleando metanol como disolvente en tiempos de reacción de 3 horas empleando ácido sulfúrico en cantidades catalíticas (Figura 11).³⁷

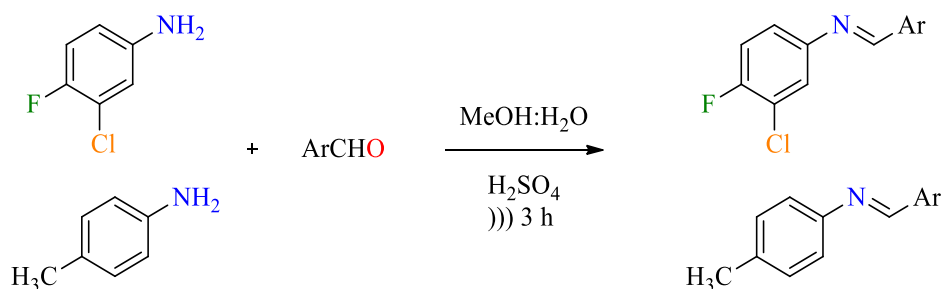


Figura 11. Síntesis asistida por ultrasonido de bases de Schiff derivadas de anilinas.

Recientemente Shing y colaboradores, sintetizaron una base de Schiff derivada de una benzohidrazina mediante reacción asistida por ultrasonido y síntesis convencional. Los autores encontraron que la síntesis por ultrasonido se lleva a cabo en 4 minutos de reacción, 45 veces más rápido que mediante síntesis a reflujo. Además, evaluaron las propiedades de esta imina como inhibidor de corrosión en muestras de acero suave.³⁸

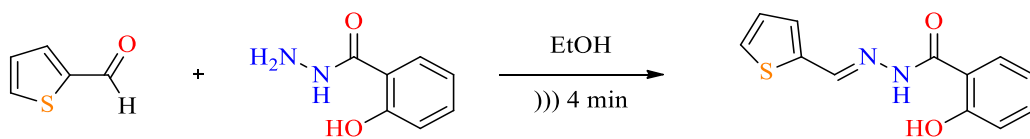


Figura 12. Ruta de síntesis por ultrasonido de base de Schiff con propiedades de anticorrosión.

Por otro lado, Zare y colaboradores, realizaron la síntesis por ultrasonido de un complejo de Cu(II) nanoestructurado y evaluaron su actividad antibacterial en bacterias Gram positivas y negativas (Figura 13). Los autores resaltan que la síntesis por ultrasonido resulta

ser más rápida que la convencional hasta por 12 veces, además de menor uso de disolvente como medio de reacción.³⁹

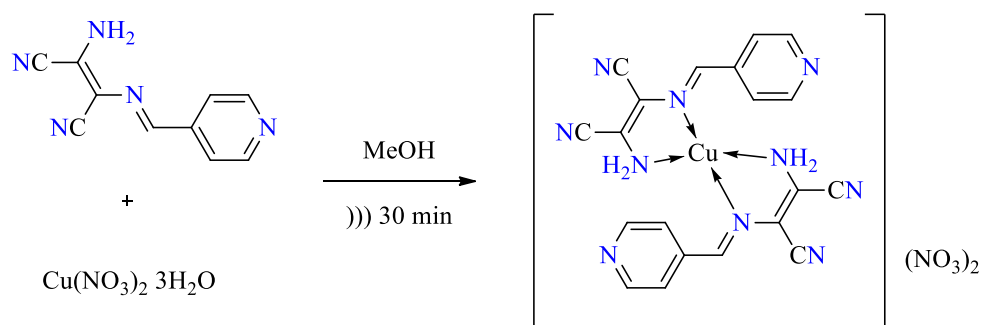


Figura 13. Complejo de Cu(II) obtenido por síntesis por ultrasonido.

Montazerozohori y colaboradores, sintetizaron un par de complejos de Zn(II) empleando síntesis asistida por ultrasonido para obtener materiales nanoestructurados empleando etanol como disolvente. Para la síntesis, una solución etanólica del ligante fue adicionada por goteo a una solución de la respectiva sal de zinc en un baño de ultrasonido hasta la formación de un precipitado (Figura 14).⁴⁰

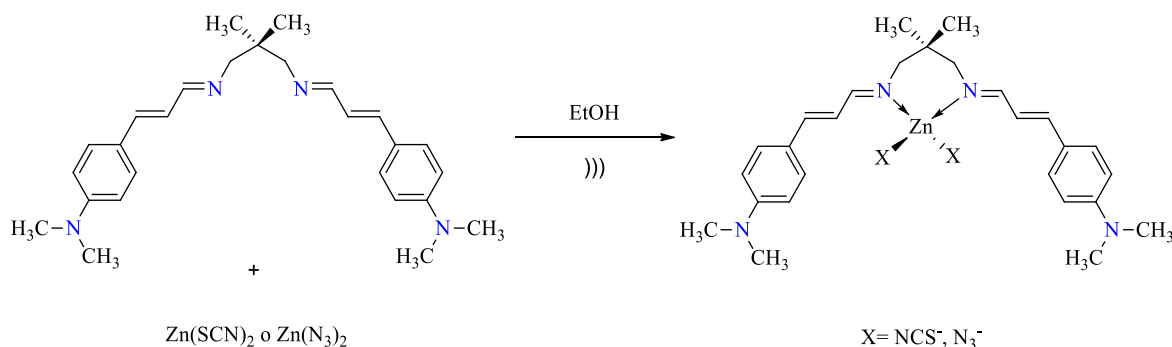


Figura 14. Síntesis por ultrasonido de complejo de zinc derivado de bases de Schiff.

Berrones y colaboradores, sintetizaron una serie de complejos de estaño luminiscentes mediante reacción por multicomponentes y asistida por ultrasonido durante 20 minutos en metanol. Los autores encontraron que bajo estas condiciones se formaban precipitados color amarillo, con alto rendimiento químico, reduciendo el tiempo de reacción considerablemente en comparación a sus reportes previos (Figura 15).⁴¹

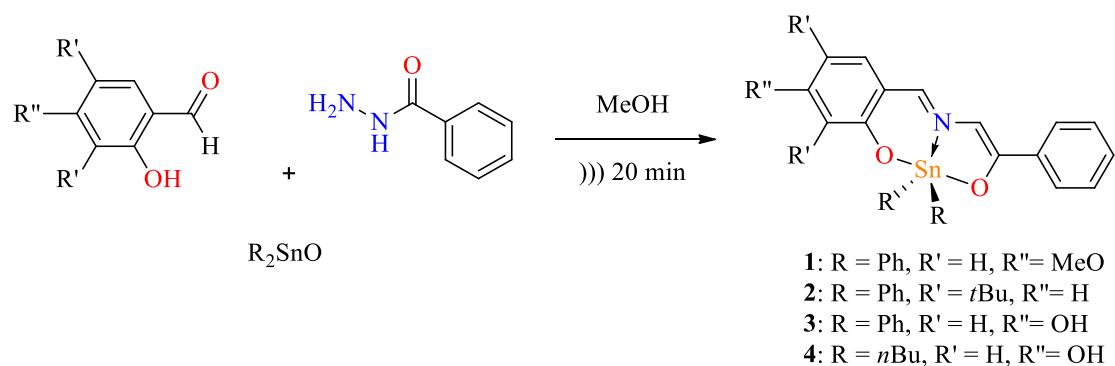


Figura 15. Síntesis multicomponentes y por ultrasonido de complejos de Sn(IV).

Del mismo modo, Lara y colaboradores, sintetizaron mediante reacción multicomponentes y asistida por ultrasonido una serie de complejos de estaño derivados de bases de Schiff con aminoácidos, empleando metanol como disolvente en 20 minutos de reacción (Figura 16). Los compuestos aplicados para producir andamios fluorescentes de fibroína de seda con potencial aplicación en ingeniería de tejidos.⁴²

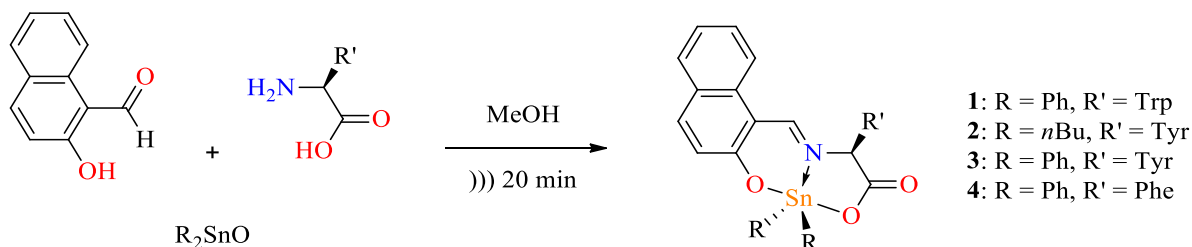


Figura 16. Síntesis asistida por ultrasonido de complejos de Sn(IV) derivados de bases de Schiff con aminoácidos.

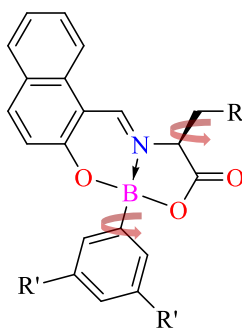
CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3. Hipótesis y Objetivos

3.1 Hipótesis

Los compuestos boro derivados de bases de Schiff (BOSCHIBAs) con aminoácidos podrían actuar como rotor molecular fluorescente, mostrando un incremento en el rendimiento cuántico con el aumento de la viscosidad del medio en comparación a las BOSCHIBAs ya reportadas, además de poseer las propiedades adecuadas, como solubilidad y permeabilidad celular, para ser aplicado como marcador fluorescente en células *in vitro*.



3.2 Objetivo General

Realizar la síntesis de una serie de compuestos organoboranos fluorescentes, evaluar sus propiedades como sensor viscosidad (termino) (MeOH/Glicerol), y emplearlos como marcador fluorescente en células *in vitro*.

3.2.1 Objetivos específicos

- Realizar la síntesis de los compuestos de boro luminiscentes.
- Caracterizar los compuestos mediante RMN, EMAR y rayos X de monocristal.
- Determinar las propiedades fotofísicas de los compuestos sintetizados.
- Evaluar la fluorescencia de los compuestos en medios con incremento de viscosidad (MeOH/glicerol).
- Determinar la actividad citotóxica de los compuestos.
- Emplear los compuestos organoboro como marcador fluorescente en células *in vitro*.

CAPÍTULO 4

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Reactivos y equipos

Este proyecto de tesis se llevó a cabo en instalaciones de la División de Estudios de Posgrado de Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos de boro fueron adquiridos de la casa comercial Aldrich. La caracterización química y estructural de los compuestos de boro se realizó en diferentes equipos ubicados en la Facultad de Ciencias Químicas y Facultad de Medicina de la UANL, y en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) (Tabla 1).

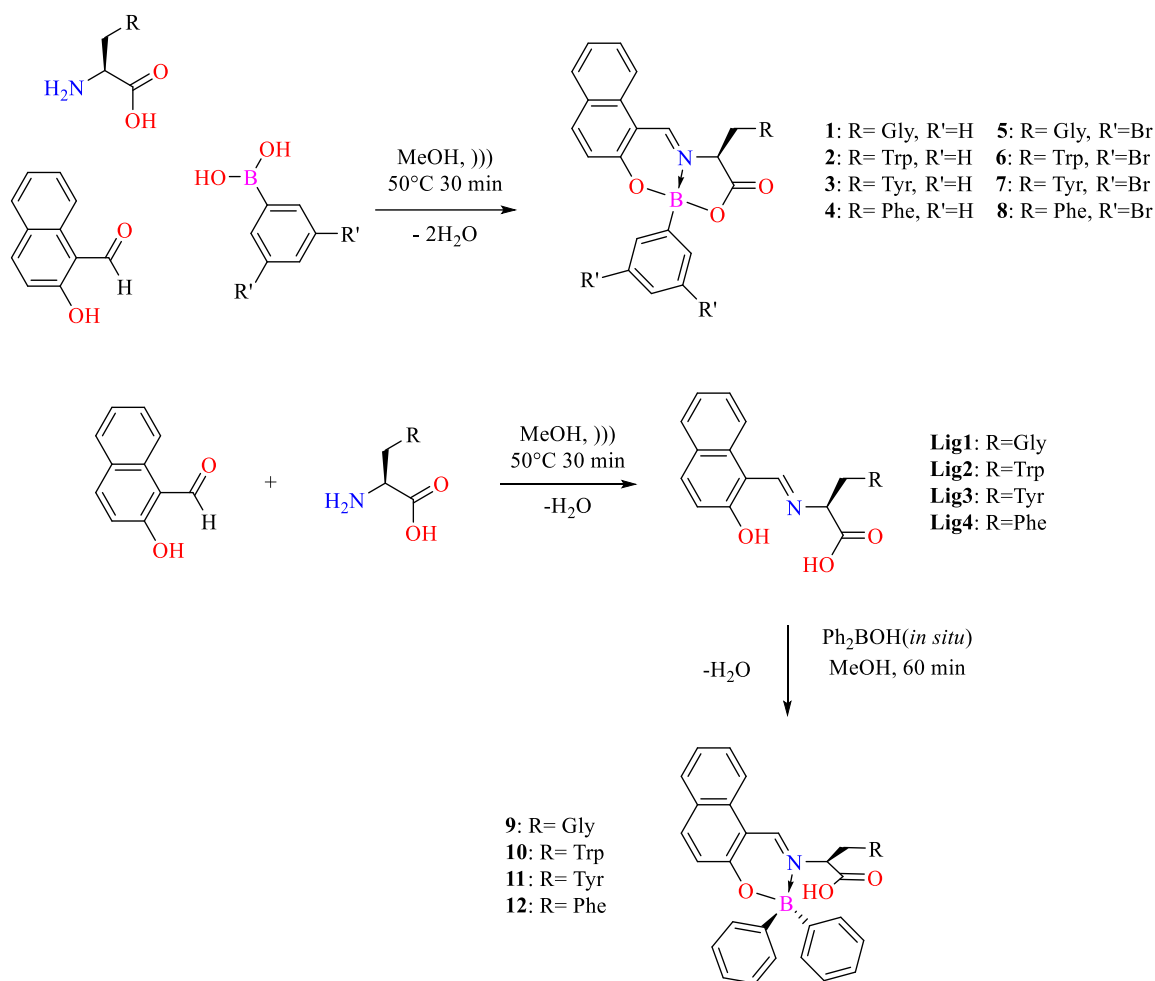
Tabla 1. Lista de Equipos y su ubicación.

Análisis	Equipo	Ubicación
Síntesis química	Baño de ultrasonido Branson 2500	Facultad de Ciencias Químicas-UANL
Espectroscopia UV-Vis	Espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 365	
Espectroscopia de fluorescencia	Horiba Scientific Fluorolog-3	
Espectros de RMN de ^1H, ^{13}C y ^{11}B	Bruker Advance DPX-400	Facultad de Medicina- UANL
Espectrometría de masa	AB Sciex API 2000 TM Sistema LC/MS/MS	CINVESTAV-IPN (CDMX)
Difracción de rayos-X	Bruker SMART APEX CCD	

4.2 Síntesis General

La síntesis de los compuestos de boro **1-8** se realizó por síntesis multicomponentes en un baño de ultrasonido Branson 2500, a través de una reacción de condensación entre el 2-hidroxi-1-naftaldehído, el correspondiente aminoácido (glicina, triptófano, tirosina o fenilalanina) y un derivado ácido fenilborónico, empleando metanol como disolvente a una

temperatura de 50°C por 30 minutos (Esquema 1). Para los compuestos **9-12** se realizó la síntesis en dos pasos, primero la obtención de los ligantes **Lig1-4** por sonicación a 50°C durante 30 minutos. Una vez obtenidos y purificados los respectivos ligantes, se prosiguió a la formación de los complejos de boro, para ello se sintetizó el ácido difenil borónico elaborado *in situ* a partir del 2-aminoetil difenilborinato, tal como indican reportes previos,⁴³ y después se adicionó al ligante en metanol y se dejó reaccionar por una hora en agitación a temperatura ambiente (Esquema 1). En todos los casos el progreso de la reacción fue monitoreado por cromatografía de capa fina cada 15 minutos. Una vez alcanzada temperatura ambiente, en algunos casos un precipitado amarillo fue obtenido y el sólido fue separado por filtración con una serie de lavados con hexano, y en otros casos la solución fue transferida a un rotaevaporador para eliminar el disolvente, seguido una precipitación con mezcla CH₂Cl₂/Hexano. Los sólidos obtenidos fueron purificados a través de cristalización por evaporación lenta del disolvente.



Esquema 1. Ruta de síntesis por ultrasonido de los compuestos **1-12**.

Síntesis específica

(**Lig1**) El ligante **Lig1** se sintetizó por reacción de condensación en baño de ultrasonido entre el 2-hidroxi-1-naftaldehído (1 mmol) y la glicina (1 mmol) a 50°C por 30 minutos, empleando metanol como disolvente. Un sólido color amarillo claro fue precipitado y purificado por filtración con una serie de lavados con hexano. Rendimiento químico 91.03%. Punto de fusión 210-215°C.⁴⁴

Lig2) El ligante fue obtenido de manera similar a **Lig1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico 89.54%. Punto de fusión 162-164°C. ¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 3.32 (dd, 1 H, ³J = 14.8 Hz, ³J = 7.6 Hz, H14'), 3.45 (dd, 1 H, ³J = 15.2 Hz, ³J =

4.8 Hz, H14), 4.77 [dd, 1 H, $^3J = 7.6$ Hz, $^3J = 4.8$ Hz, H13], 6.71 (d, 1 H, $^3J = 9.2$ Hz, H3), 6.98 (t, 1 H, $^3J = 7.2$ Hz, H20), 7.07 (t, 1 H, $^3J = 6.8$ Hz, H19), 7.16 (s, 1 H, H16), 7.18 (t, 1 H, $^3J = 7.6$ Hz, H6), 7.33 (d, 1 H, $^3J = 8.0$ Hz, H18), 7.35 (t, 1 H, $^3J = 7.2$ Hz, H7), 7.61 (m, 2 H, H21-H5), 7.71 (d, 1 H, $^3J = 9.6$ Hz, H2), 7.72 (d, 1 H, $^3J = 8.4$ Hz, H8), 8.83 [s, 1 H, H11], 10.93 (s, 1 H, -NH), 14.17 (s, 1 H, -OH) ppm. ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 29.84$ (C14), 64.36 (C13), 106.42 (C9), 109.04 (C15), 111.89 (C18), 118.83 (C21), 118.86 (C8), 119.03 (C20), 121.56 (C19), 122.83 (C6), 124.72 (C16), 125.47 (C3), 125.82 (C4), 127.52 (C22), 128.34 (C7), 129.34 (C5), 134.54 (C10), 136.59 (C17), 137.65 (C2), 159.09 (C11), 172.57 (C1), 176.86 (C12) ppm. COSY ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$): $\delta = 3.32/3.45$ (H14'/H14), 3.32/4.77 (H14'/H13), 3.45/4.77 (H14/H13), 6.71/7.71 (H3/H2), 6.98/7.61 (H20/H21), 7.07/7.33 (H19/H18), 7.16/10.93 (H16/NH), 7.18/7.61 (H6/H5), 7.35/7.72 (H7/H8). HSQC ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): $\delta = 3.32/29.84$ (H14'/C14), 3.45/29.84 (H14/C14), 4.77/64.36 (H13/C13), 6.71/125.47 (H3/C3), 7.16/124.72 (H16/C16), 7.18/122.83 (H6/C6), 7.61/129.34 (H5/C5), 7.71/137.65 (H2/C2), 7.72/118.86 (H8/C8), 8.83/159.09 (H11/C11). HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$ 359.1396; encontrado: 359.139019, error: 0.094347 ppm.

(Lig3) El ligante fue obtenido de manera similar a **Lig1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico 65.43%. Punto de fusión. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 3.05$ (dd, 1 H, $^3J = 14.0$ Hz, $^3J = 8.4$ Hz, H14'), 3.22 (dd, 1 H, $^3J = 14.0$ Hz, $^3J = 4.8$ Hz, H14), 4.66 [dd, 1 H, $^3J = 7.6$ Hz, $^3J = 4.8$ Hz, H13], 6.65 (d, 2 H, $^3J = 8.4$ Hz, H16), 6.75 (d, 1 H, $^3J = 9.6$ Hz, H3), 7.02 (d, 2 H, $^3J = 8.4$ Hz, H17), 7.20 (t, 1 H, $^3J = 7.2$ Hz, H6), 7.41 (t, 1 H, $^3J = 7.2$ Hz, H7), 7.64 (d, 1 H, $^3J = 7.6$ Hz, H5), 7.75 (d, 1 H, $^3J = 9.6$ Hz, H2), 7.87 (d, 1 H, $^3J = 8.4$ Hz, H8), 8.88 [s, 1 H, H11], 14.18 (s, 1 H, -OH) ppm. ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 38.78$ (C14), 65.70 (C13), 106.57 (C9), 109.04 (C15), 115.64 (C17), 118.97 (C8), 122.93 (C6), 125.18 (C3), 125.94 (C4), 126.74 (C15), 128.39 (C7), 129.38 (C5), 130.90 (C16), 134.45 (C10), 137.53 (C2), 156.61 (C18), 159.55 (C11), 172.27 (C1), 176.13 (C12) ppm. COSY ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{H}}$): $\delta = 3.05/3.22$ (H14'/H14), 3.05/4.66 (H14'/H13), 3.22/4.66 (H14/H13), 6.65/7.02 (H16/H17), 6.75/7.75 (H3/H2), 7.20/7.64 (H6/H5), 7.20/7.41 (H6/H7), 7.41/7.87 (H7/H8). HSQC ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): $\delta = 3.05/38.78$ (H14'/C14), 3.22/38.78 (H14/C14), 4.66/65.70 (H13/C13), 6.65/130.90 (H16/C16), 6.75/125.18 (H3/C3), 7.02/115.64 (H17/C17), 7.20/122.93 (H6/C6), 7.41/128.39 (H7/C7), 7.64/129.38 (H5/C5), 7.75/137.53

(H2/C2), 7.87/118.97 (H8/C8), 8.88/159.55 (H11/C11). HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[C_{20}H_{17}NO_4 + H]^+$ 336.1238; encontrado: 336.123034, error: 0.816044 ppm.

(Lig4) El ligante fue obtenido de manera similar a **Lig1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 92.09%. Punto de fusión. 1H NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$, 298 K): δ = 3.17 (dd, 1 H, 3J = 14.0 Hz, 3J = 8.4 Hz, H14'), 3.35 (dd, 1 H, 3J = 14.0 Hz, 3J = 5.2 Hz, H14), 4.72 [dd, 1 H, 3J = 8.4 Hz, 3J = 4.8 Hz, H13], 6.75 (d, 1 H, 3J = 9.6 Hz, H3), 7.02 (d, 2 H, 3J = 8.4 Hz, H17), 7.16-7.23 (m, 2 H, H18-H6), 7.23-7.30 (m, 4 H, H16-H17), 7.40 (t, 1 H, 3J = 7.2 Hz, H7), 7.64 (d, 1 H, 3J = 7.6 Hz, H5), 7.75 (d, 1 H, 3J = 9.6 Hz, H2), 7.86 (d, 1 H, 3J = 8.4 Hz, H8), 8.89 [s, 1 H, H11], 14.22 (s, 1 H, —OH) ppm. ^{13}C NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$, 298 K): δ = 39.41 (C14), 65.76 (C13), 106.64 (C9), 119.01 (C8), 122.95 (C6), 124.99 (C3), 126.00 (C4), 127.19 (C18), 128.37 (C7), 128.83 (C17), 129.37 (C5), 129.93 (C16), 134.38 (C10), 137.03 (C15), 137.42 (C2), 159.76 (C11), 172.17 (C1), 175.63 (C12) ppm. COSY (δ_H/δ_H): δ = 3.17/3.35 (H14'/H14), 3.17/4.72 (H14'/H13), 3.35/4.72 (H14/H13), 6.75/7.74 (H3/H2), 7.19/7.64 (H6/H5), 7.19/7.40 (H6/H7), 7.40/7.86 (H7/H8). HSQC (δ_H/δ_C): δ = 3.17/39.41 (H14'/C14), 3.35/39.41 (H14/C14), 4.72/65.76 (H13/C13), 6.75/124.99 (H3/C3), 7.18/127.19 (H18/C18), 7.19/122.95 (H6/C6), 7.25/128.83 (H17/C17), 7.26/129.93 (H16/C16), 7.40/128.37 (H7/C7), 7.64/129.37 (H5/C5), 7.74/137.42 (H2/C2), 7.86/119.01 (H8/C8), 8.89/159.76 (H11/C11). HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[C_{20}H_{17}NO_3 + H]^+$ 320.1288; encontrado 320.128120, error: 1.018127 ppm.

(1) El compuesto **1** fue sintetizado mediante síntesis por ultrasonido entre **Lig1** (1 mmol) y el ácido fenilborónico por 30 min a 50°C empleando metanol como disolvente. Después de este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente, formándose un precipitado amarillo, el cual fue filtrado y lavado con hexano. Sólido color amarillo oscuro. Rendimiento químico: 90.08%. Punto de fusión: 225-228°C. 1H NMR (400.13 MHz, $CDCl_3$, 298 K): δ = 4.38 (d, 1 H, 3J = 17.6 Hz, H13'), 4.74 (d, 1 H, 3J = 17.2 Hz, H13), 7.25 (m, 3 H, H16, H16', H17), 7.30 (d, 1 H, J = 8.80 Hz, H3), 7.41 (m, 2 H, H15', H15), 7.47 (t, 1 H, J = 8.0 Hz, H6), 7.62 (t, 1 H, J = 8.0 Hz, H7), 7.81 (d, 1H, J = 4.4 Hz, H5), 7.84 (d, 1H, J = 4.0 Hz, H8), 8.07 (d, 1 H, J = 9.20 Hz, H2), 8.78 (s, 1 H, H11). ^{13}C NMR (100.61 MHz, $CDCl_3$, 298 K): δ = 54.05 (C13), 110.92 (C9), 119.86 (C8), 120.84 (C3), 125.22 (C6), 127.83 (C17), 128.03 (C4), 128.56 (C5), 129.68 (C16, C7), 130.83 (C15), 131.44 (C10), 140.83 (C2), 155.45 (C11),

162.34 (C1), 168.03 (C12) ppm. COSY (δ_H/δ_H): δ = 3.17/3.35 (H14'/H14), 3.17/4.72 (H14'/H13), 3.35/4.72 (H14/H13), 6.75/7.74 (H3/H2), 7.19/7.64 (H6/H5), 7.19/7.40 (H6/H7), 7.40/7.86 (H7/H8). HSQC (δ_H/δ_C): δ = 3.17/39.41 (H14'/C14), 3.35/39.41 (H14/C14), 4.72/65.76 (H13/C13), 6.75/124.99 (H3/C3), 7.18/127.19 (H18/C18), 7.19/122.95 (H6/C6), 7.25/128.83 (H17/C17), 7.26/129.93 (H16/C16), 7.40/128.37 (H7/C7), 7.64/129.37 (H5/C5), 7.74/137.42 (H2/C2), 7.86/119.01 (H8/C8), 8.89/159.76 (H11/C11). ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 7.32 ppm. MS (m/z): calculado para $[\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{BNO}_3 + \text{H}]^+$ 316.1350; encontrado: 316.1.

(2) El compuesto **2** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 93.45%. Punto de fusión: 263-265°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 3.70 (dd, 1 H, J = 4.0 Hz, J = 16.40 Hz, H14'), 3.93 (dd, 1 H, J = 4.80 Hz, J = 16.40 Hz, H14), 5.56 (dd, 1 H, J = 4.0 Hz, J = 5.60 Hz, H13), 6.89 (t, 1 H, J = 8.0 Hz, H20), 6.95 (d, 1 H, J = 2.4 Hz, H16), 6.99 (t, 1 H, J = 8.0 Hz, H19), 7.18 (m, 3 H, H25, H25', H26), 7.22 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H18), 7.33 (m, 2 H, H24, H24'), 7.45 (t, 1 H, J = 7.6 Hz, H6), 7.62 (t, 1 H, J = 7.2 Hz, H7), 7.70 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H21), 7.89 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H5), 8.16 (d, 1 H, J = 8.4 Hz, H8), 8.17 (d, 1 H, J = 9.2 Hz, H2) 9.51 (s, 1 H, H11), 10.84 (s, 1 H, NH). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 23.69 (C14), 63.36 (C13), 107.53 (C17), 111.78 (C18), 111.95 (C10), 118.99 (C21, C20), 120.58 (C3), 121.70 (C19), 121.75 (C8), 123.63 (C16), 125.34 (C6), 127.85 (C22), 127.92 (C24), 127.98 (C25), 128.23 (C4), 129.56 (C5), 129.60 (C7), 131.33 (C23), 131.80 (C9), 136.20 (C15), 140.13 (C2), 156.71 (C11), 160.39 (C1), 172.23 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 7.04 ppm. MS (m/z): calculado para $[\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{BN}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$ 445.2970; encontrado: 445.1.

(3) El compuesto **3** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 83.12%. Punto de fusión: 218-221°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 2.64 (dd, 1 H, J = 11.60 Hz, J = 14.0 Hz, H14'), 3.22 (dd, 1 H, J = 4.40 Hz, J = 13.60 Hz, H14), 4.57 (dd, 1 H, J = 4.40 Hz, J = 11.60 Hz, H13), 6.76 (d, 1 H, J = 8.40 Hz, H17), 6.89 (d, 1 H, J = 8.40 Hz, H16), 7.11-7.07 (m, 4 H, H3, H21, H21', H22), 7.36-7.29 (m, 4 H, H6, H8, H20, H20'), 7.44 (t, 1 H, J = 7.20 Hz, H7), 7.78 (d, 1H, 3J = 8.0 Hz, H5), 8.05 (d, 1 H, J = 8.80 Hz, H2), 8.09 (s, 1 H, H11), 8.41 (s, 1 H, -OH). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 37.03 (C14), 66.05 (C13), 111.56 (C9), 115.55 (C17), 115.63 (18), 120.21 (C8),

120.49 (C3), 124.90 (C6), 126.25 (C15), 127.58 (C21), 127.96 (C4), 128.00 (C22), 129.35 (C5), 129.37 (C7), 130.78 (C20), 130.83 (C16), 131.72 (C10), 139.84 (C2), 157.74 (C11), 161.54 (C1), 170.46 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 5.72$ ppm. MS m/z : calculado para $[\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{BNO}_4 + \text{H}]^+$ 422.2590; encontrado: 422.2.

(4) El compuesto **4** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 91.78%. Punto de fusión: 225-228°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 2.89$ (dd, 1 H, $J = 11.60$ Hz, $J = 13.60$ Hz, H14'), 3.47 (dd, 1 H, $J = 4.80$ Hz, $J = 13.60$ Hz, H14), 4.81 (dd, 1 H, $J = 4.80$ Hz, $J = 11.60$ Hz, H13), 7.20-7.27, (m, 7 H, H6, H8, H20, H20', H21, H21', H22), 7.40-7.49 (m, 6 H, H3, H16, H16', H17, H17', H18), 7.58 (t, 1 H, $J = 7.20$ Hz, H7), 7.93 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H5), 8.21 (d, 1 H, $J = 9.20$ Hz, H2), 8.24 (s, 1 H, H11). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 37.94$ (C14), 66.59 (C13), 111.45 (C9), 120.13 (C8), 120.46 (C3), 124.91 (C6), 127.48 (C22), 127.61 (C17), 127.94 (C4), 128.04 (C18), 128.87 (C20), 129.39 (C5, C7), 129.74 (C16), 130.75 (C21) 131.68 (C10), 135.75 (C15), 139.97 (C2), 157.83 (C11), 161.61 (C1), 170.31 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 6.51$ ppm. HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{BNO}_3 + \text{H}]^+$ 406.2600; encontrado: 406.161028, error: 0.313944 ppm.

(5) El compuesto **5** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo oscuro. Rendimiento químico: 92.03%. Punto de fusión: 118-120°C. MS m/z : calculado para $[\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{BBBr}_2\text{NO}_3 + \text{H}]^+$ 473.9257; encontrado: 473.9.

(6) El compuesto **6** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo oscuro. Rendimiento químico: 89.98%. Punto de fusión: 275-278°C. HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{BBBr}_2\text{NO}_3 + \text{H}]^+$ 603.0811; encontrado: 602.991986, error: 0.196913 ppm.

(7) El compuesto **7** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 45.34%. Punto de fusión: 225-228°C. HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{BBBr}_2\text{NO}_3 + \text{H}]^+$ 580.0444; encontrado: 579.974343, error: 0.039364 ppm.

(8) El compuesto **8** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 94.69%. Punto de fusión: 250-258°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 ,

298 K): δ = 2.78 (t, 1 H, 3J = 12.8 Hz, H14'), 3.59 (dd, 1 H, 3J = 3.60 Hz, 3J = 14.0 Hz, H14), 4.42 (dd, 1 H, 3J = 3.60 Hz, 3J = 12.40 Hz, H13), 7.10 (d, 1 H, J = 8.40 Hz, H8), 7.15 (d, 1 H, J = 9.20 Hz, H3), 7.20 (m, 2 H, H20), 7.44 (t, 1 H, J = 7.20 Hz, H6), 7.58 (m, 5 H, H16, H16', H17', H17 H18), 7.54 (t, 1 H, J = 7.20 Hz, H7), 7.59 (s, 1 H, H22), 7.63 (s, 1 H, H11), 7.77 (d, 1H, 3J = 8.0 Hz, H5), 8.01 (d, 1 H, J = 9.20 Hz, H2). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 37.94 (C14), 66.59 (C13), 111.28 (C9), 119.71 (C8), 120.60 (C3), 123.14 (C19), 125.44 (C6), 128.05 (C4), 128.12 (C18), 129.49 (C20), 129.52 (C16), 129.66 (C5), 129.89 (C7), 131.28 (C10), 137.36 (C17), 133.80 (C22), 135.09 (C15), 141.30 (C2), 156.81 (C11), 161.18 (C1), 170.18 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 5.72 ppm. HRMS (APCI/TOF-Q) m/z : calculado para $[\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{BBBr}_2\text{NO}_3 + \text{H}]^+$ 564.0520; encontrado 563.979385, error: 0.022050 ppm.

(9) El compuesto **9** fue obtenido a partir de **Lig1** (1 mmol) y el ácido difenilborónico (1.2 mmol) preparado *in situ*, en agitación por 1 hora empleando MeOH como disolvente. Un precipitado amarillo fue obtenido y fue purificado por filtración seguido de una serie de lavados con hexano. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 91.58%. Punto de fusión: 210-212°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 4.40 (s, 1 H, H13), 6.96-7.06 (m, 7 H, H3, H16, H16', H16'', H16''', H17, H17'), 7.25 (t, 1 H, J = 7.2 Hz, H6), 7.28 (m, 4 H, H15, H15', H15'', H15'''), 7.44 (t, 1 H, J = 7.2 Hz, H7), 7.70 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H5), 7.95 (d, 1 H, J = 9.2 Hz, H2), 8.01 (d, 1H, J = 8.4 Hz, H8), 9.29 (s, 1 H, H11). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 54.61 (C13), 110.29 (C9), 119.64 (C8), 121.13 (C3), 123.96 (C6), 126.17 (C17), 126.80 (C16), 127.59 (C4), 128.80 (C7), 129.24 (C5), 132.48 (C10), 133.10 (C15), 139.28 (C2), 163.03 (C11), 163.98 (C1), 168.34 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 4.80 ppm. MS m/z : calculado para $[\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{BNO}_3 + \text{H}]^+$ 394.2490; encontrado 394.2.

(10) El compuesto **10** fue obtenido de forma similar al compuesto **1**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 95.01%. Punto de fusión: 108-112°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 3.25 (dd, 1 H, J = 7.6 Hz, J = 14.4 Hz, H13), 3.53 (dd, 1 H, J = 4.4 Hz, J = 14.8 Hz, H13), 4.86 (dd, 1 H, J = 4.8 Hz, J = 7.6 Hz, H13), 6.89 (t, 1 H, J = 7.2 Hz, H20), 7.05-7.18 (m, 6 H, H3, H6, H19, H29, H29', H30), 7.21-7.41 (m, 8 H, H7, H8, H16, H18, H21, H25, H25', H26), 7.43 (m, 2 H, H28, H28'), 7.54 (m, 2 H, H24, H24'), 7.79 (d, 1 H, J =

8.0 Hz, H5), 8.04 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, H2), 8.94 (s, 1 H, H11). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 29.71$ (C14), 63.01 (C13), 108.45 (C17), 109.67 (C9), 111.36 (C18), 118.50 (C21), 119.19 (C20), 119.24 (C8), 120.95 (C3), 121.71 (C19), 123.77 (C16), 124.65 (C6), 126.12 (C30), 126.47 (C26), 126.89 (C29), 127.08 (C25), 127.51 (C4), 128.55 (C7), 129.08 (C5), 132.38 (C10), 132.92 (C28), 133.67 (C24), 136.04 (C15), 139.04 (C2), 160.29 (C11), 163.40 (C1), 171.12 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 5.04$ ppm. MS m/z : calculado para $[\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{BN}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$ 523.4110; encontrado: 523.2.

(**12**) El compuesto **12** fue obtenido de forma similar al compuesto **9**. Sólido color amarillo claro. Rendimiento químico: 93.20%. Punto de fusión: 112-115°C. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 2.95$ (dd, 1 H, $J = 8.40$ Hz, $J = 13.6$ Hz, H14'), 3.13 (dd, 1 H, $J = 4.80$ Hz, $J = 13.6$ Hz, H14), 4.55 (dd, 1 H, $J = 5.20$ Hz, $J = 8.4$ Hz, H13), 6.83 (m, 2 H, H16, H16'), 6.94-7.04 (m, 5 H, H3, H22, H25, H25', H26), 7.08-7.16 (m, 5 H, H17, H17', H18, H21, H21'), 7.23 (t, 1 H, $J = 7.20$ Hz, H6), 7.27 (m, 2 H, H24, H24'), 7.35 (m, 2 H, H20, H20'), 7.41 (t, 1 H, $J = 7.2$ Hz, H7), 7.67 (m, 2 H, H5, H8), 7.93 (d, 1 H, $J = 9.20$ Hz, H2), 9.06 (s, 1 H, H11). ^{13}C NMR (100.61 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 48.79$ (C14), 63.86 (C13), 109.91 (C9), 119.49 (C8), 121.03 (C3), 124.00 (C6), 126.15 (C26), 126.54 (C22), 126.91 (C25), 127.11 (C21), 127.30 (C18), 127.61 (C4), 128.65 (C17), 128.80 (C7), 129.24 (C5), 129.55 (C16), 132.36 (C10), 132.79 (C24), 133.80 (C20), 137.2 (C15), 139.36 (C2), 160.25 (C11), 163.65 (C1), 170.87 (C12) ppm. ^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 5.08$ ppm. MS m/z : calculado para $[\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{BNO}_3 + \text{H}]^+$ 484.3740; encontrado 484.3.

5.4 Caracterización

5.4.1 Difracción de rayos X de monocristal (DRX).

Las estructuras de rayos X de fueron obtenidas mediante la colección del cristal y montado con aceite de paratona-N sobre un circuito criogénico, e inmediatamente se colocó en una corriente de nitrógeno a baja temperatura a 100(2) K. Los datos se registraron en un sistema detector de área Bruker SMART APEX CCD equipado con un refrigerador Oxford Cryosystems 700 Series Cryostream, un monocromador de grafito y un tubo sellado de enfoque fino utilizando $\text{K}\alpha$ de Mo ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Las estructuras se resolvieron mediante métodos directos utilizando SHELXS-97⁴⁵ y refinado contra F2 en todos los datos por

mínimos cuadrados de matriz completa con SHELXL-9.⁴⁶ Todas las manipulaciones del software se realizaron bajo el programa de entorno WIN-GX.⁴⁷ Todos los átomos más pesados se encuentran por diferencia del mapa de Fourier y refinado anisotrópicamente. Algunos átomos de hidrógeno son encontrados por el mapa de Fourier y refinados isotrópicamente. CCDC: **2**: 2000541, **4**: 2000539, **6**: 2000540, **8**: 2000538, **10**: 2002773, **Lig4**: 2000542

5.4.2 *Resonancia magnética nuclear (RMN).*

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C y ^{11}B de los compuestos organoboro se han registrado con un espectrómetro Bruker Advance DPX-400: ^1H (399.78 MHz), ^{13}C (100.52 MHz) y ^{11}B (128.38 MHz). Se utilizaron diferentes disolventes deuterados dependiendo su solubilidad (CDCl_3 , acetona- d_6 y $\text{DMSO-}d_6$). Se determinaron espectros 2D de correlación homonuclear (COSY) y heteronuclear (HSQC y HMBC). Como referencia interna se ha utilizado tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento aparentes se han medido en Hertz (Hz).

5.4.3 *Espectrometría de masas.*

Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) fueron obtenidos por cromatografía de líquidos con analizador de tiempo de vuelo y detector de masas en un equipo Agilent Technologies, empleando ionización química a presión atmosférica (APCI) como fuente de iones y un analizador de tiempo de vuelo (TOF) para la separación de estos.

5.4.4 *Caracterización fotofísica.*

La determinación de los espectros de absorción UV-Vis de los compuestos de boro se realizaron a temperatura ambiente, en diferentes solventes grado espectroscópico, en un espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 365, con lámparas de deuterio y de tungsteno, realizando barridos de 600 a 190 nm. Los espectros de emisión se determinaron en solución en diferentes solventes y a temperatura ambiente, en un fluorómetro Horiba Scientific Fluorolog-3, siendo excitados respecto a la longitud de onda mayor para cada compuesto determinado en la espectroscopia de absorción, realizando un barrido de 300 a 800 nm. Los rendimientos cuánticos de fluorescencia en solución (Φ) se determinaron de acuerdo con el

procedimiento descrito en la literatura⁴⁸ y utilizando sulfato de quinina en H₂SO₄ 0.1 M (λ = 0.54 a 310 nm) como estándar. Se analizaron tres soluciones con absorbancia inferior a 0,1 para cada muestra y se promedió el rendimiento cuántico.

5.4.5 Métodos computacionales

Todos los cálculos fueron realizados usando la base de datos del software GAUSSIAN 09.⁴⁹ La geometría de todas las estructuras fue completamente optimizada con el método B3LYP/6-31G(d,p).⁵⁰⁻⁵² Los mínimos fueron caracterizados por el cálculo de sus modos vibracionales a el mismo nivel de teoría. En orden de conocer la energía de rotación del grupo fenilo en los compuestos **1-8**, el enlace involucrado para esta rotación fue rotado cada 20°. Los resultados fueron visualizados usando el programa Chemcraft v1.7.

5.4.6 Ensayo de viabilidad celular *in vitro*

Se usaron células de melanoma murino B16F10 (ATCC, CRL-6475, Manassas, VA) para determinar los efectos citotóxicos de los compuestos los compuestos de boro seleccionados. Las células de melanoma se mantuvieron en medios de cultivo GIBCO-DMEM/F12 suplementados con 10% de FBS y 1X antibiótico-antimitótico (todos de ThermoFisher Scientific, Waltham, MA), a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%. Para los experimentos, las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad celular de 2000 células por pocillo en 100 μ L de medio y se dejaron en reposo durante la noche antes de que se añadieran los tratamientos. Los compuestos se agregaron a concentraciones de 0.1, 1, 2.5, 5 y 10 mg/mL, y después de 48 h, se agregaron 10 μ L de reactivo alamarBlue® (Biosource Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) a cada pozo para determinar la viabilidad celular siguiendo las instrucciones del fabricante.

5.4.7 Bioimagen *in vitro*

Para evaluar las capacidades de los compuestos de boro para teñir células *in vitro*, se sembraron células de melanoma murino B16F10 a densidades de 5x10⁴ células por pocillo en 500 μ L de medio de crecimiento sobre placas de 12 pocillos. Después de la incubación durante la noche, se agregó una solución de 10 μ g/mL de cada compuesto a cada pocillo y 2 h más tarde se montaron sobre cubreobjetos con Vectashield (Vector Laboratories, Inc. Burlingame, CA) y se analizaron por microscopía confocal en un Leica TCS SP5 Confocal

System, a una longitud de onda de excitación de 405 nm y emisión de 420-550 nm. Las células tratadas con DMSO se usaron como control para determinar la fluorescencia endógena.

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Síntesis

Como se mostró en los antecedentes, se han sintetizado una gran cantidad de rotores moleculares fluorescentes (RMFs) derivados de compuestos organoboranos, tales como BODIPYs, dioxaborinos y recientemente BOSCHIBAs, sin embargo, el método de síntesis asistida por ultrasonido acompañada por reacción por multicomponentes descrita en esta investigación resulta en un método bastante atractivo, ya que se reducen los tiempos de reacción, número de pasos de síntesis, se evitan condiciones anhidras, y se obtienen altos rendimientos de reacción, lo que se traduce en una química sustentable.

En comparación con otras BOSCHIBAs, los compuestos **1-8** se obtuvieron 96 veces más rápido, se mejoró 20% el rendimiento químico de reacción y se redujo a la mitad el número pasos y la temperatura de síntesis, al emplear síntesis por ultrasonido y reacción multicomponentes. En el caso de los compuestos **9-12**, donde se emplea el ácido difenilborónico sintetizado *in situ*, la síntesis de éste fue optimizada en comparación a reportes previos, reduciendo el tiempo de síntesis y la sustitución del éter dietílico para su extracción por un solvente de menor toxicidad. Todo esto aunado a que el diseño estructural de las moléculas permitió que éstas tuvieran solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos para poderse caracterizar completamente en distintas técnicas espectroscópicas y espectrométricas (*vide infra*).

6.2 Difracción de rayos X de monocristal

En el presente trabajo, se obtuvieron los cristales apropiados de los compuestos **2**, **4**, **6**, **8**, **10** y el ligante **Lig4** para determinar su estructura molecular a través de difracción de rayos X de monocristal (Figura 17). Los datos cristalográficos más relevantes se encuentran resumidos en la Tabla 2. En estado sólido, las estructuras cristalinas obtenidas para los compuestos de boro muestran átomos boro tetracoordinados con una geometría tetraédrica y la formación de dos heterociclos fusionados de seis y cinco miembros, para los compuestos **2**, **4**, **6** y **8**, y un heterociclo de seis miembros para **10**, debido al enlace de coordinación N→B. Las longitudes del enlace N→B, **2**=1.569, **4**=1.566, **6**=1.562, **8**=1.557 **10**=1.495 Å, sugieren una fuerte coordinación del átomo de nitrógeno con el de boro, ya que muestran menor distancia de enlace que un enlace covalente N-B.^{53,54} Además, de acuerdo con la deducción de Höpfl,⁵⁴ el átomo de boro muestra un fuerte enlace covalente coordinado con

el átomo de nitrógeno, confirmado con los valores obtenidos de carácter tetraédrico, 91.33, 93.07, 94.30, 93.52 y 94.35 %, respectivamente, señalando que a mayor carácter tetraédrico menor distancia de enlace $N \rightarrow B$, tal como se aprecia en el compuesto **10**. El ligante **Lig4** cristalizó en un sistema cristalino monoclinico y grupo espacial Cc con ocho moléculas cristalográficamente independientes dentro de la unidad asimétrica.

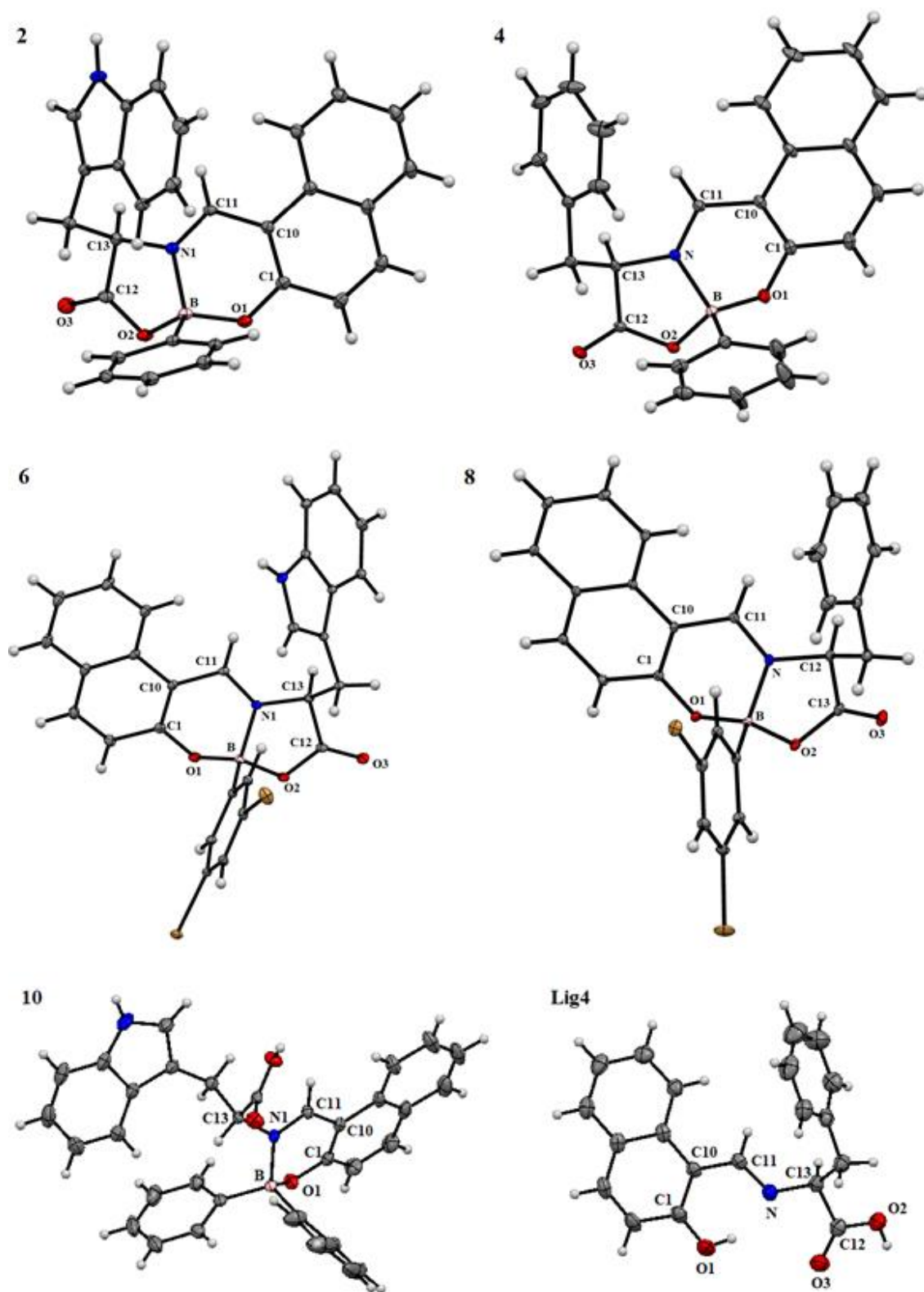


Figura 17. Estructuras de rayos X para los compuestos 2, 4, 6, 8, 10 y Lig4.

Tabla 2. Datos cristalográficos de los compuestos **2**, **4**, **6**, **8**, **10** y **Lig4**.

	2	4	6	8	10	Lig4
Formula	C ₃₂ H ₂₇ BN ₂ O	C ₃₂ H ₂₇ BN ₂ O	C ₃₂ H ₂₇ BN ₂ O	C ₂₆ H ₁₈ BBr ₂ N	C ₃₂ H ₂₇ BN ₂	C ₃₂ H ₂₇ BN ₂ O
empírica	3	3	3	O ₃	O ₃	3
Peso molecular	444.28	490.16	602.06	563.04	522.40	319.35
Longitud de onda[λ]	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
Temperatura [k]	100	100	100	100	293	100
Tamaño de cristal [mm]	0.35x0.33x0.19	0.35x0.30x0.20	0.33x0.16x0.14	0.56x0.47x0.34	0.20x0.18x0.10	0.49x0.27x0.21
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico	Triclínico	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c	P-1	P-1	P-1	P2 ₁ /n	Cc
a, [Å]	11.0569(8)	9.7506(8)	9.5563(5)	9.1438(6)	16.587(9)	16.8573(8)
b, [Å]	13.3348(9)	11.8120(10)	10.8157(5)	11.2289(7)	10.184(5)	18.0368(8)
c, [Å]	14.7938(10)	12.0321(10)	13.2525(7)	11.6830(7)	17.383(9)	11.8865(5)
α [°]	90	69.193(3)	113.999(2)	96.88(2)	90.00	90
β [°]	100.901(2)	72.256(3)	103.537(2)	102.30(2)	108.815	111.028(2)
γ [°]	90	70.943(3)	95.111(2)	106.28(2)	90.00	90
V, [Å ³]	2141.9(3)	1196.14(18)	1190.10(11)	110423	2779.29	3373.4(3)
Z	4	2	2	2	4	8
ρ _{calc} , mg.cm ⁻³	1.378	1.361	1.680	1.693	1.642	1.258
μ, mm ⁻¹	0.089	0.302	3.441	3.701	1.712	0.085
2θ range for data collection [°]	2.97-30.51	3.22-30.51	2.98-30.51	2.99-30.51	3.30-28.19	2.84-28.36
No. of reflns collected	29380	16560	16668	14897	75832	29395

No. of indep reflns	6535	7726	7732	6682	4610	8374
[R_{int}]	0.0341	0.0207	0.0200	0.0199	0.1172	0.0458
Goodness of fit	1.034	1.058	1.025	1.098	1.540	1.050
$R1$, $wR2$	0.0405;	0.0924;	0.0249;	0.0292;	0.0572;	0.0514;
($I > 2\sigma(I)$)	0.1033	0.2714	0.0626	0.0739	0.1341	0.1159
$R1$, $wR2$	0.0483;	0.1013;	0.0299;	0.0313;	0.1037;	0.0871;
(all data)	0.1083	0.2809	0.0649	0.0749	0.1701	0.1371
$\Delta\rho_{\text{min}}$ ($\text{e } \text{\AA}^{-3}$)	-0.296	-1.514	-0.826	-1.305	-1.869	-0.219
$\Delta\rho_{\text{max}}$ ($\text{e } \text{\AA}^{-3}$)	0.395	1.127	0.373	0.610	1.967	0.276

Mientras que el análisis cristalográfico revela que las estructuras moleculares de los compuestos **4** y **8** solo presentan interacciones interatómicas del tipo apilamiento aromático, en las estructuras de los compuestos **2**, **6**, **10** y el ligante **Lig4** se observan interacciones inter- e intramoleculares del tipo puente de hidrogeno. Esto se debe a que éstos compuestos presentan un mayor número de heteroátomos que pueden participar como donador o aceptor de protones. En la estructura cristalina de **2** se aprecia una interacción intermolecular entre el hidrógeno en posición C16 y el par electrónico libre del oxígeno O2, con una distancia de 2.665 Å. La estructura cristalina de **6** revela también una interacción intermolecular, sin embargo, en este caso entre el protón del nitrógeno N2 y el par electrónico libre del oxígeno O3 con una distancia de 2.160 Å (Figura 18).

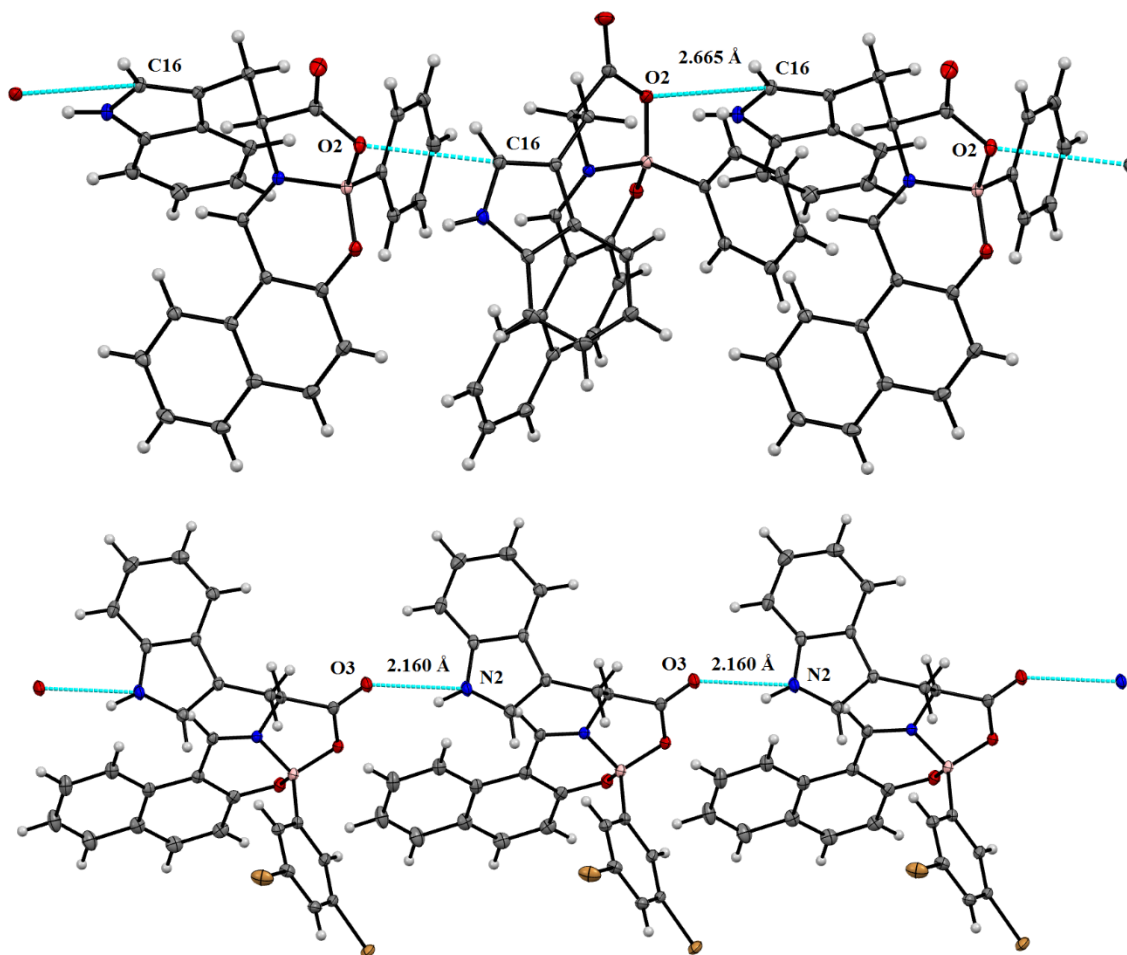


Figura 18. Interacciones intermoleculares de los compuestos **2** y **6**.

La estructura cristalina de **10** presenta una interacción intramolecular entre el protón imínico en posición C11 y el par electrónico libre de O2, con una distancia de 2.410 Å. Además, presenta interacciones intermoleculares por medio del ácido carboxílico libre, formando una especie dimérica muy estable con una distancia de 1.815 Å, siendo O2 el átomo donador y O3 el átomo aceptor de protones (Figura 19). La formación de dímeros entre ácidos carboxílicos ha sido ampliamente observada con anterioridad,^{55–58} ya que es una interacción bastante fuerte, debido al átomo de hidrógeno fuertemente positivo y el par electrónico libre sobre el átomo de oxígeno fuertemente negativo. La corta distancia entre el protón del átomo donador y el aceptor, además de la magnitud del ángulo formado entre estos, refleja en gran medida la fuerza de la interacción del puente de hidrógeno.

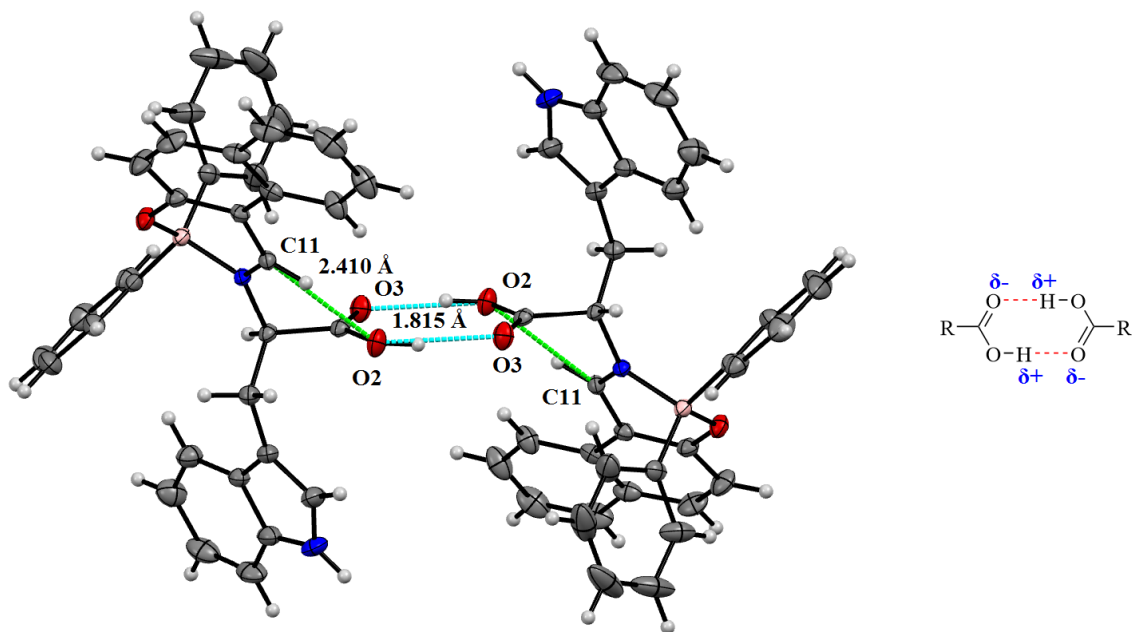


Figura 19. Interacciones intra- e intermoleculares del compuesto **10**.

Es importante señalar que los resultados de rayos X del compuesto **4** revelan que la distribución de los átomos correspondientes al fragmento aromático fenilborónico se encuentran en dos posiciones diferentes, uno perpendicular a otro, debido a la libre movilidad del anillo aromático incluso en estado sólido (Figura 20). Una de las principales causas de poder observar este tipo de comportamiento en moléculas con gran movilidad es cuando los experimentos se realizan a baja temperatura, provocando que los átomos se muevan con menor rapidez y puedan ser detectados en diferentes posiciones. Esto nos brinda información valiosa acerca del carácter del compuesto para poder actuar como un rotor molecular.

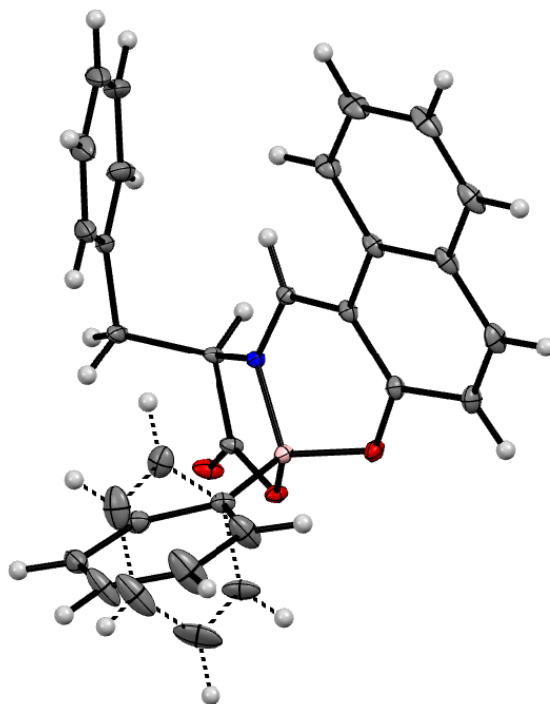


Figura 20. Estructura cristalina del compuesto **4** y rotación de del fragmento fenilborónico en estado sólido.

Previamente la estructura molecular de **Lig4** ha sido reportada,⁵⁹ sin embargo, en este trabajo se obtuvo un conformero de esta base de Schiff en estado sólido (Figura 21). Tal como el reporte previo, **Lig4** cristaliza en un sistema cristalino monoclinico, pero en un grupo espacial polar Cc y por lo tanto diferentes parámetros de red. La obtención de un grupo espacial no quiral se debe a que el compuesto está presente como una mezcla racémica dentro de la celda unidad. De acuerdo con las proyecciones de Newman, el compuesto **Lig4** está en conformación anti-periplanar (174.52°), respecto al anillo aromático del aminoácido y al grupo ácido carboxílico del mismo, mientras que la estructura reportada anteriormente estos grupos presentan una conformación sinclinal (56.54°). Es muy común encontrar diferentes conformeros para una molécula dentro de estructuras cristalinas, y esto depende en gran medida del tipo de cristalización, la naturaleza del disolvente utilizado, el proceso de nucleación y las interacciones inter o intramoleculares. Además, la estructura molecular de **Lig4** presentó una forma tautomérica ceto-amina, según la densidad de electrones residuales durante el proceso de refinamiento de la estructura de rayos X. Sin embargo, esto fue confirmado por las longitudes de enlace entre los átomos O1-C1, C1-C10, C10-C11 y C11-

N, involucrados durante el proceso de tautomería. Como se puede ver en la Tabla 3 las longitudes de enlace son consistentes con los valores de la Base de datos estructural de Cambridge (CSD, por sus siglas en inglés) para la forma tautomérica de ceto-amina de **Lig4** y la estructura reportada.

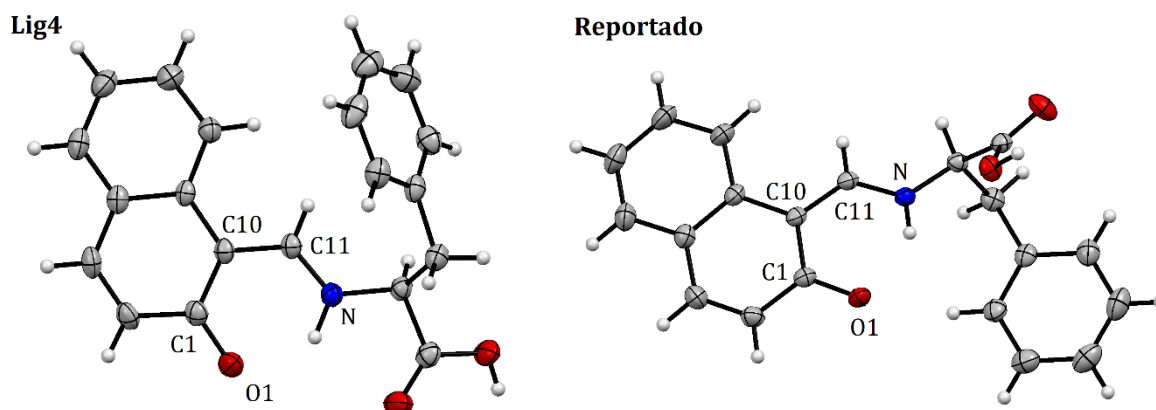


Figura 21. Estructura molecular de **Lig4** y su conformero reportado previamente.

Tabla 3. Datos estadísticos del CSD para los tautómeros fenol-imina y ceto-amina, y valores en angstroms (Å) para las estructuras de rayos X de **Lig4** y reportados previamente.

Tautomer	O1-C1	C1-C10	C10-C11	C11-N
Fenol-imina	1.343	1.406	1.450	1.286
Ceto-amina	1.291	1.431	1.414	1.303
Lig4	1.286	1.425	1.411	1.307
Reported	1.300	1.420	1.411	1.303

Además, en la estructura cristalina de **Lig4**, existe un puente de hidrógeno intramolecular entre N—H···O1 con una distancia N···O1 de 2.575 (4) Å y un ángulo N—H···O1 de 130.27°, estos valores son similares a los observados en el conformero previamente informado. Como se mencionó anteriormente, el compuesto está en una mezcla racémica y el par enantiomérico coexiste en la celda unitaria, lo cual se ha observado en bases de Schiff derivadas de α -aminoácidos. Desde hace algunas décadas se sabe que los aminoácidos pueden racemizarse calentando con agua en presencia de un aldehído en condiciones neutras o débilmente alcalinas, y esto podría ser la causa de la racemización, debido al agua formada como subproducto de la reacción de base de Schiff o uso de

disolvente sin secado. Curiosamente, se observó que cada enantiómero tiene una interacción intermolecular entre el O2-H carboxílico y el átomo de oxígeno O1 de una molécula vecina de la misma configuración, con una distancia $O1 \cdots O2$ de 2.504 (4) Å y un ángulo $O2-H \cdots O1$ de 165,20°. Esta interacción intermolecular preferencial observada en la estructura cristalina podría ser un indicador de que en las mezclas racémicas de compuestos derivados de aminoácidos existe una preferencia homoenantiomérica. De manera similar ocurre con la estructura previamente reportada, sin embargo, los autores no se percataron de este comportamiento.

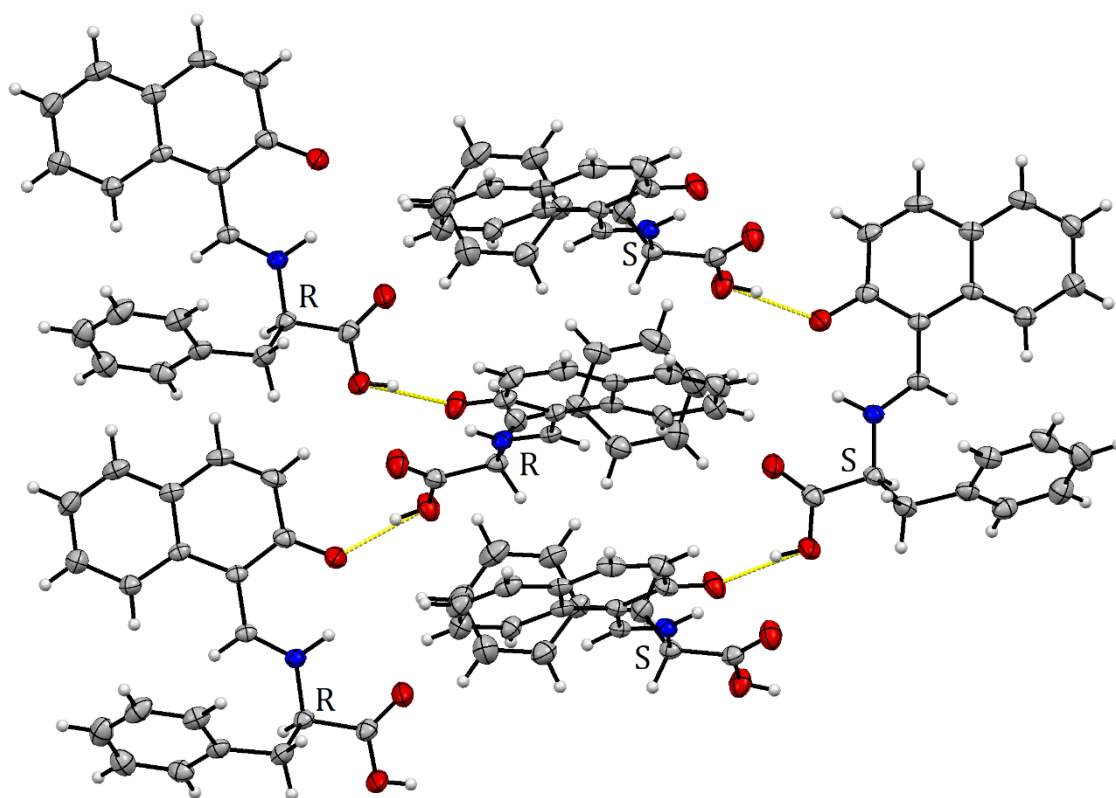


Figura 22. Interacciones intermoleculares preferenciales de los enantiómeros R y S en la estructura molecular de **Lig4**.

Por otro lado, el punto de fusión observado para **Lig4** es de 150-153 °C, sin embargo, informes anteriores indican valores de 184-186,⁵⁹ 170⁶⁰ y 175°C⁴⁴ para la misma molécula. Esta variación en el punto de fusión podría deberse a la obtención de un conformero diferente al observado anteriormente, y se sabe que la estructura cristalina de un compuesto afecta al punto de fusión.

6.3 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Por otro lado, la evidencia de la tetracoordinación del átomo de boro también fue obtenida en solución, donde los espectros de RMN de ^{11}B muestran desplazamientos químicos en el rango de 5.7-6.2 ppm para todos los compuestos, con señales resonantes anchas debido a los bajos tiempos de relajación del átomo de boro. Debido a una mayor protección del núcleo de boro al adoptar una hibridación sp^3 , el desplazamiento químico aparece en frecuencias más bajas, en comparación a los precursores ácido fenilborónico, donde el átomo de boro tricoordinado e hibridación sp^2 aparece alrededor de 28.5 ppm del espectro de RMN de ^{11}B , comprobando así la formación del complejo. Este comportamiento coincide con lo reportado en la literatura, donde se estudia el desplazamiento químico de especies de boro tri- y tetracoordinadas.^{36,61,62} A manera de ejemplo se muestra el espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **4** (Figura 23).

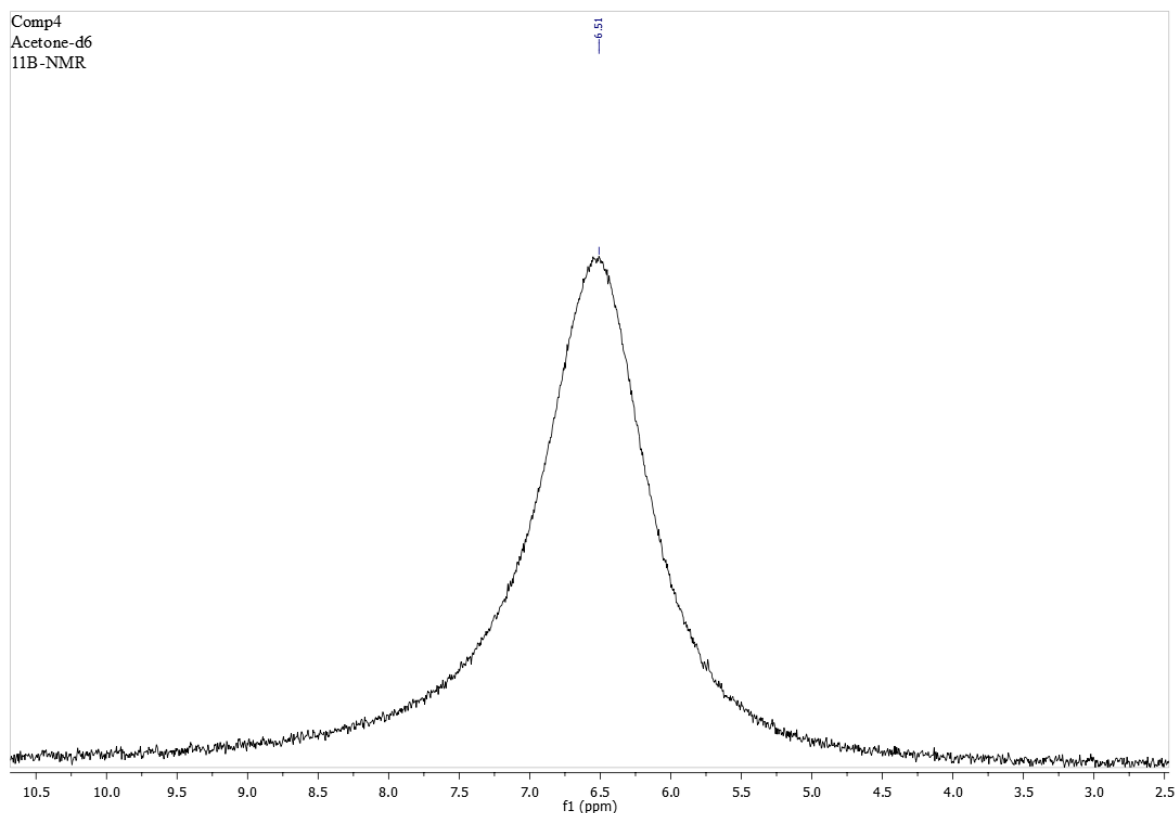


Figura 23. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **4**.

Por otro lado, se puede observar en los espectros de RMN de ^1H que el desplazamiento químico de la señal del protón imínico H-11 para todos los compuestos está en un intervalo de 7.30-8.80 ppm, los cuales aparecen en frecuencias más bajas en comparación de sus ligantes libres **Lig1-4**. Este mismo comportamiento se observa en RMN de ^{13}C donde el carbono imínico C11 de los complejos **1-12** aparece en frecuencias más bajas que sus respectivos ligantes. Éstos son otros indicativos de la coordinación $\text{N} \rightarrow \text{B}$, tal y como se observa previamente en la síntesis de bases de Schiff y sus complejos.^{36,63,64} Además, podemos observar en la RMN de ^{13}C que las señales del carbono del carbonilo C12 en los ligantes **Lig1-4** aparece en un rango de 175.63-176.86 ppm, los cuales corresponden al grupo funcional ácido carboxílico, pero en los compuestos **1-8** el grupo carbonilo C12 tiene un desplazamiento de 168.03-170.38 ppm característico para el grupo funcional ester,^{65,66} lo cual se debe también a la formación del enlace covalente entre el oxígeno y el boro. Sin embargo, para los compuestos **9**, **10** y **12** el desplazamiento químico del carbono del carbonilo C12 aún corresponde más a un ácido carboxílico al estar ligeramente más desplazado a frecuencias altas en comparación a **1-8**,^{65,66} debido a que este grupo no se encuentra comprometido por la formación del complejo.

De forma adicional, se puede apreciar que el protón y carbono imínico también se ven afectados en su desplazamiento químico cuando el fragmento del aminoácido se encuentra libre, es decir en los ligantes **Lig1-4** y en los compuestos **9**, **10** y **12**, apareciendo en frecuencias más altas que en comparación al resto de los compuestos. Este efecto mayormente apreciado en la RMN de ^1H puede deberse a que al tener poca restricción de movilidad por parte del fragmento de aminoácido, éste provoca un menor efecto de apantallamiento o protección por parte del grupo aromático, caso contrario con los demás compuestos donde el fragmento de aminoácido se encuentra enlazado de forma covalente con el átomo de boro y el anillo aromático de aminoácido está mayormente posicionado hacia protón y carbono imínico, provocando que aparezcan en frecuencias más bajas.

Además, al observar las señales de RMN de ^1H y ^{13}C correspondientes al fragmento aromático fenilborónico en los compuestos **1-8**, se puede apreciar señales únicas de los distintos hidrógenos y carbonos en las posiciones *orto*, *meta* y *para* respecto al átomo de boro central. Esto se debe a la simetría y libre rotación del anillo aromático en solución a

temperatura ambiente. Existe el reporte donde evalúan la capacidad rotacional de un rotor molecular a través de experimentos de RMN a diferentes temperaturas y pudieron observar que a baja temperatura presentan una diferenciación entre hidrógenos y carbonos simétricos, debido a la poca movilidad del fragmento rotor.⁶⁷

Se muestra como ejemplo el espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (Figura 24 y 25) del ligante **Lig4** y compuestos **4**, **8** y **12**, todos derivados de la fenilalanina, donde se observan los comportamientos discutidos.

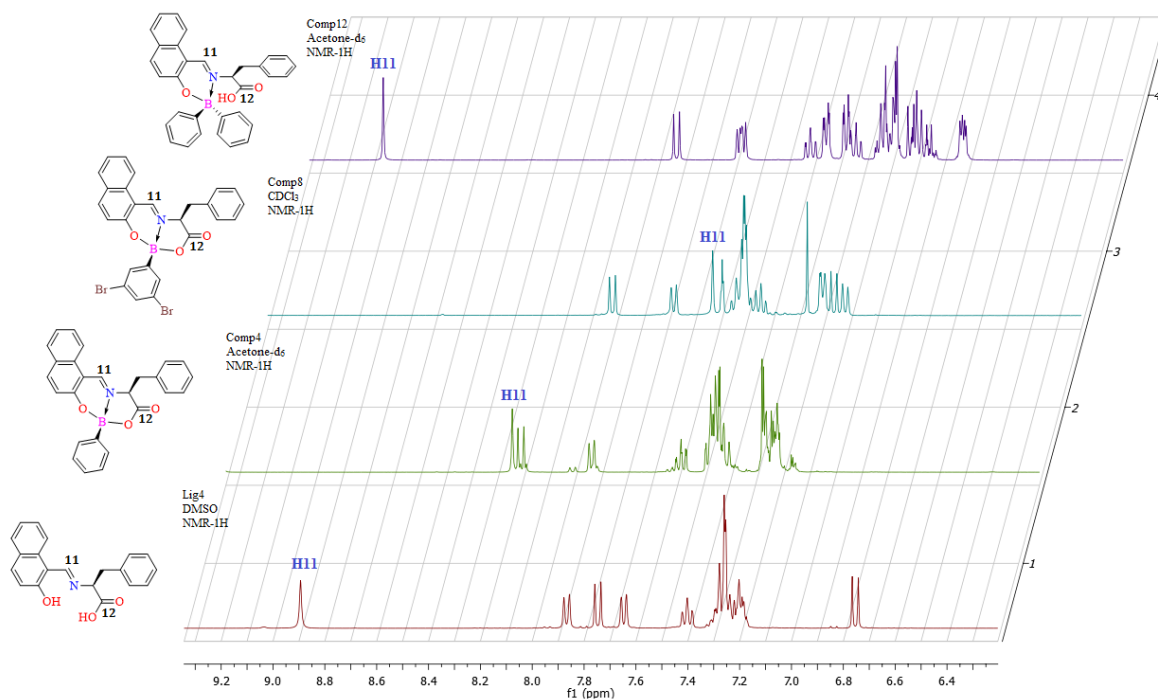


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H ampliado en la zona aromática del ligante y compuestos derivados de la fenilalanina **Lig4**, **4**, **8** y **12**.

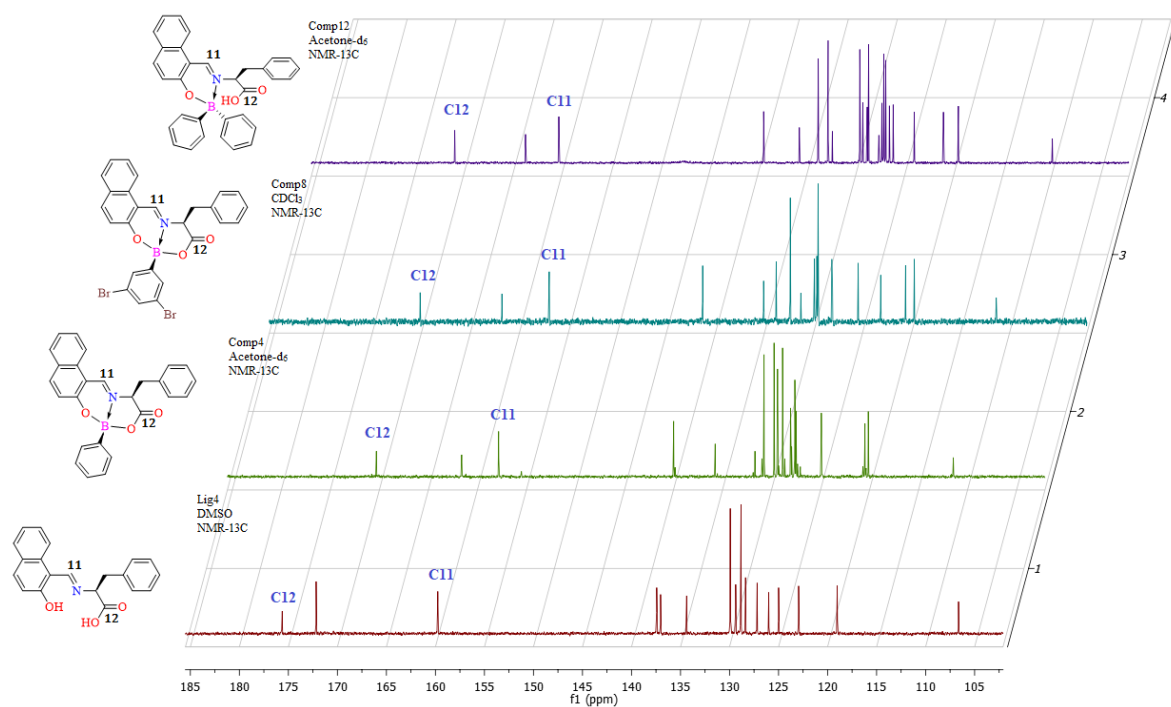


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C ampliado en la zona aromática del ligante y compuestos derivados de la fenilalanina **Lig4**, **4**, **8** y **12**.

Tabla 4. Desplazamientos químicos (ppm) selectos de RMN de ^{11}B , ^1H y ^{13}C obtenidos para los compuestos **1-12** y **Lig1-4**.

Comp.	^{11}B	^1H	^{13}C	
		H11	C11	C12
Lig2	—	8.83	159.09	176.86
Lig3	—	8.88	159.55	176.13
Lig4	—	8.89	159.76	175.63
1	7.32	8.80	155.45	168.03
2	7.04	9.51	156.71	172.23
3	5.72	8.09	157.74	170.46
4	6.51	8.24	157.83	170.31
5	5.71	9.57	159.19	168.25
8	5.72	7.63	156.95	170.38
9	4.80	9.26	163.03	168.34

10	4.86	8.79	160.29	171.32
12	5.08	9.06	160.25	170.87

6.4 Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR).

En los espectros masas de alta resolución (EMAR) se observó la presencia del ion molecular correspondiente con la masa molecular teórica de cada compuesto de boro (Tabla 6). Además, los espectros también muestran para los compuestos **1-12** como fragmentación principal la pérdida de masa del ácido fenilborónico. A manera de ejemplo se presenta el espectro de masas del compuesto **7** (Figura 26). Cabe señalar que al realizar una ampliación del ion molecular se puede observar la distribución isotópica de la molécula y que concuerda con la distribución teórica calculada (Figura 27). En la Tabla 6 se encuentran condensados los datos de espectrometría de masas para todos los compuestos.

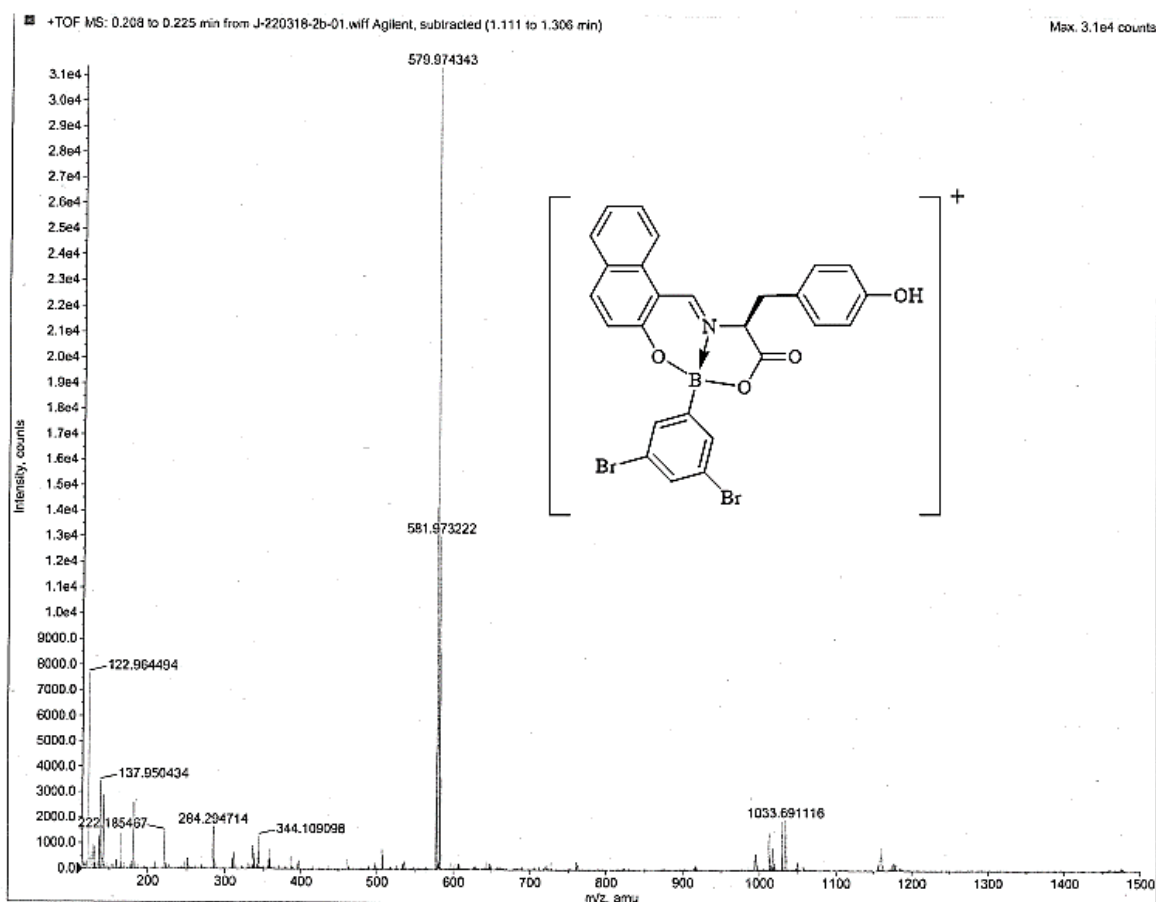


Figura 26. Espectro de masas para el compuesto **7**.

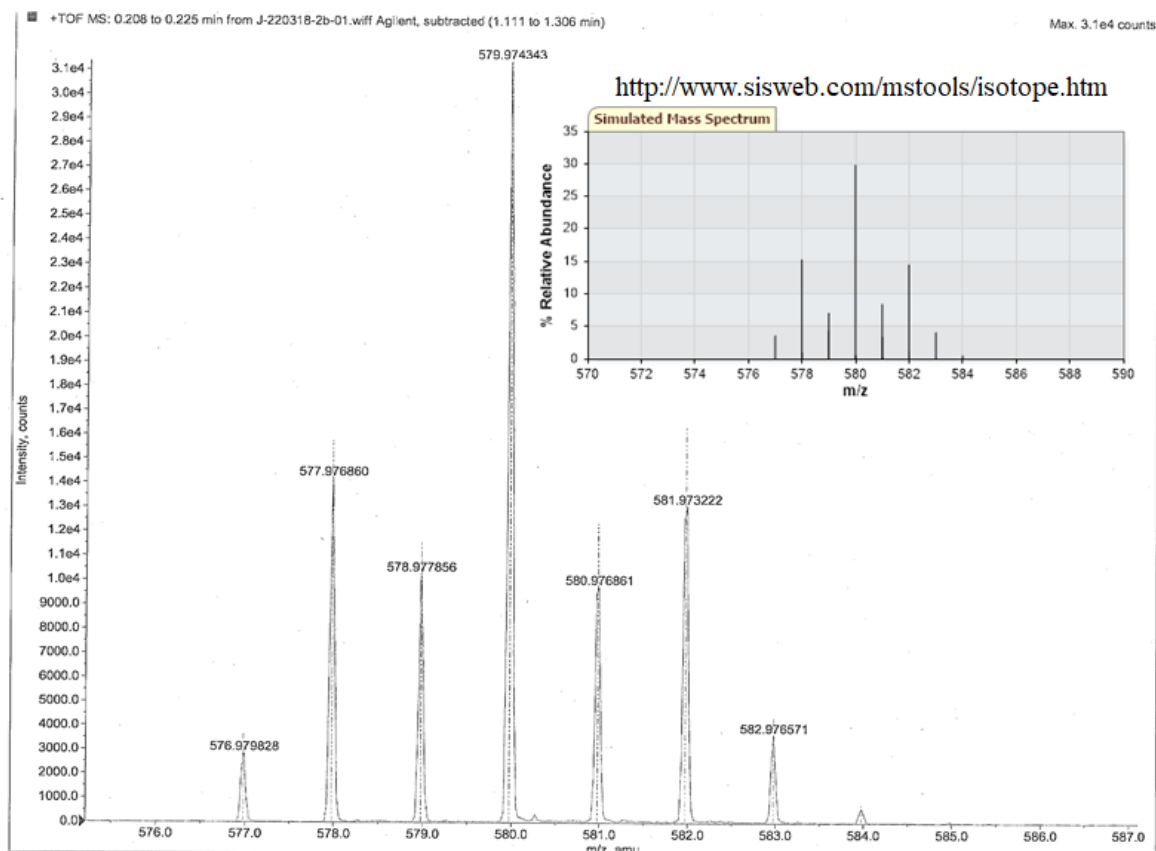


Figura 27. Distribución isotópica del compuesto **7** observada en el ion molecular.

Tabla 5. Datos de espectrometría de masas para los ligantes **Lig1-4** y compuestos **1-12**.

Comp.	Fórmula	Masa Teórica	Experimental	Error (ppm)
Lig1^a	C ₁₃ H ₉ NO ₃	229.2350	230.2	
Lig2	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₃	359.1396	359.139019	0.094347
Lig3	C ₂₀ H ₁₇ NO ₄	336.1238	336.123034	0.816044
Lig4	C ₂₀ H ₁₇ NO ₃	320.1288	320.128120	1.018127
1^a	C ₁₉ H ₁₄ BNO ₃	315.1350	316.1	
2^a	C ₂₈ H ₂₁ BN ₂ O ₃	444.2970	445.1	
3^a	C ₂₆ H ₂₀ BNO ₄	421.2590	422.2	
4	C ₂₈ H ₁₉ BNO ₃	405.2600	406.161028	0.313944
5^a	C ₁₉ H ₁₂ BBBr ₂ NO ₃	472.9257	473.9	
6	C ₂₈ H ₁₉ BBBr ₂ N ₂ O ₃	602.0811	602.991986	0.196913

7	$C_{26}H_{18}BBr_2NO_4$	579.0444	579.974343	0.039364
8	$C_{26}H_{18}BBr_2NO_3$	563.0450	563.979385	0.022050
9^a	$C_{25}H_{20}BNO_3$	393.2490	394.2	
10^a	$C_{34}H_{27}BN_2O_3$	522.4110	523.2	
11	$C_{32}H_{26}BNO_4$	499.3642	-	-
12^a	$C_{32}H_{26}BNO_3$	483.3740	484.3	

^a Análisis obtenido en espectrómetro de masas de baja resolución.

6.4 Propiedades fotofísicas

6.4.1 Espectroscopia UV-Vis

La Figura 28 presenta los espectros de absorción de los compuestos organoboro **6-8** determinados en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente. En general, los compuestos revelan una banda en la región del visible con λ_{max} alrededor de 420 nm atribuido a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ del grupo azometino. Además, también se puede apreciar una banda de absorción a 335 nm atribuido a las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ debido a la transferencia de carga intramolecular (TCI) que tiene lugar dentro del sistema aromático. Se logró observar un desplazamiento batocrómico de las transiciones en el espectro de los compuestos de boro respecto a sus ligantes libres, lo cual es atribuido a la coordinación del nitrógeno imínico con el átomo central.

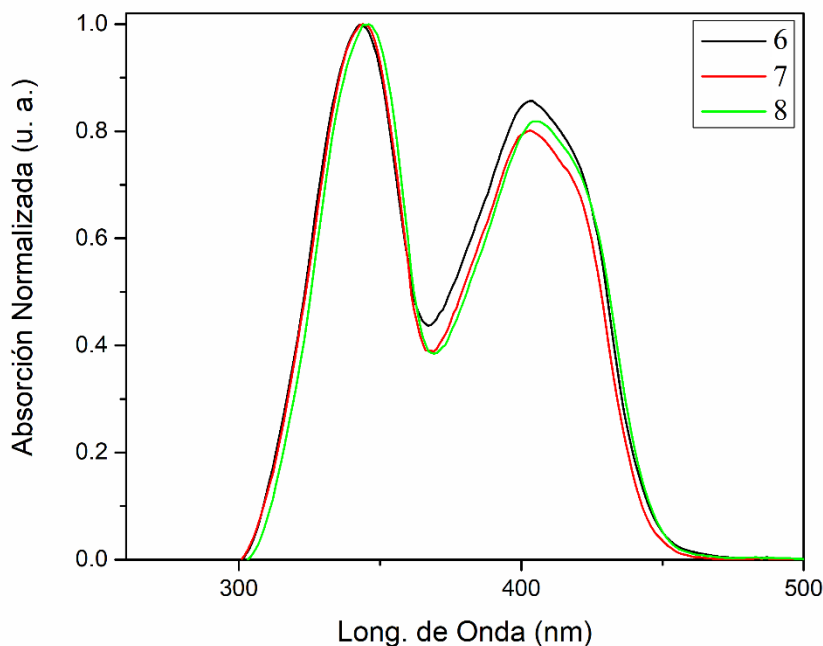


Figura 28. Espectro de absorción UV-Vis de los compuestos **6-8**.

6.4.2 Espectroscopia de fluorescencia.

Del mismo modo, los espectros de emisión de los compuestos de boro **6-8** se determinaron a temperatura ambiente en CH_2Cl_2 (Figura 29) bajo una excitación de 410 nm, correspondiente a la longitud de onda de absorción de menor energía. De forma general, se observó para todos los compuestos una la banda de emisión alrededor de los 460 nm, el cual es atribuido a la transferencia de carga intramolecular (ICT). Sin embargo, los compuestos **7** y **8** muestran una alta intensidad de fluorescencia mientras que el compuesto **6** presenta una fluorescencia muy débil.

Este comportamiento se ve reflejado en el cálculo del rendimiento cuántico de fluorescencia, donde el compuesto derivado del triptófano presenta un valor significativamente inferior al resto de los compuestos. Anteriormente el grupo de investigación ha reportado las propiedades fotofísicas de compuestos luminiscentes de estaño derivados de bases de Schiff con aminoácidos, donde los compuestos derivados del triptófano también presentaron un valor de rendimiento inferior al resto de compuestos.⁶⁸ Sin embargo,

existe escasa información de las propiedades fotofísicas de compuestos de coordinación derivados de aminoácidos para poder hacer una comparación más extensa.

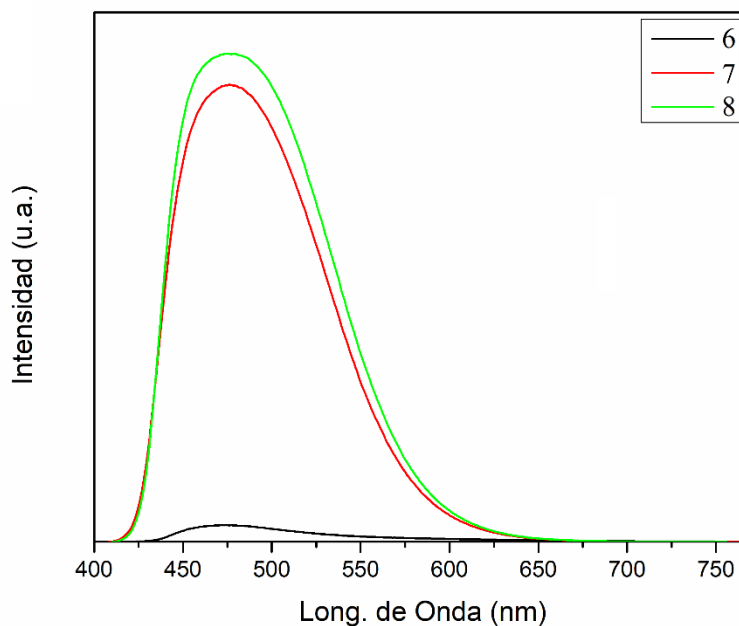


Figura 29. Espectro de emisión de los compuestos **6-8**.

En la Tabla 7 se encuentran resumidas las propiedades fotofísicas encontradas para los compuestos evaluados, resaltando que el compuesto **6** derivado del triptófano presenta un rendimiento cuántico significativamente inferior que los compuestos derivados de fenilalanina y tirosina.

Tabla 6. Propiedades fotofísicas de los compuestos **6-8**.

Comp.	λ_{abs} [nm]	λ_{emi} [nm]	ϵ [$10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	$\Delta\nu$ [cm^{-1}]	Φ [%]
6	403	491	6.33	96504	0.21
7	403	515	3.94	122823	31.06
8	406	500	5.42	103084	31.09

6.5 Química computacional

En orden de explicar el comportamiento molecular de los compuestos **1-12**, se desarrollaron estudios de Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) para todos los

compuestos. Se exploró la superficie de energía potencial (PES), a fin de localizar la estructura de menor energía, usando el método B3LYP/6-31G(d,p), implementado en Gaussian 09. Además, las estructuras optimizadas se caracterizaron teóricamente calculando el valor de sus frecuencias usando el mismo método, corroborando la convergencia de la estructura. En la Figura 30 se muestran las estructuras optimizadas para los compuestos **1-12**.

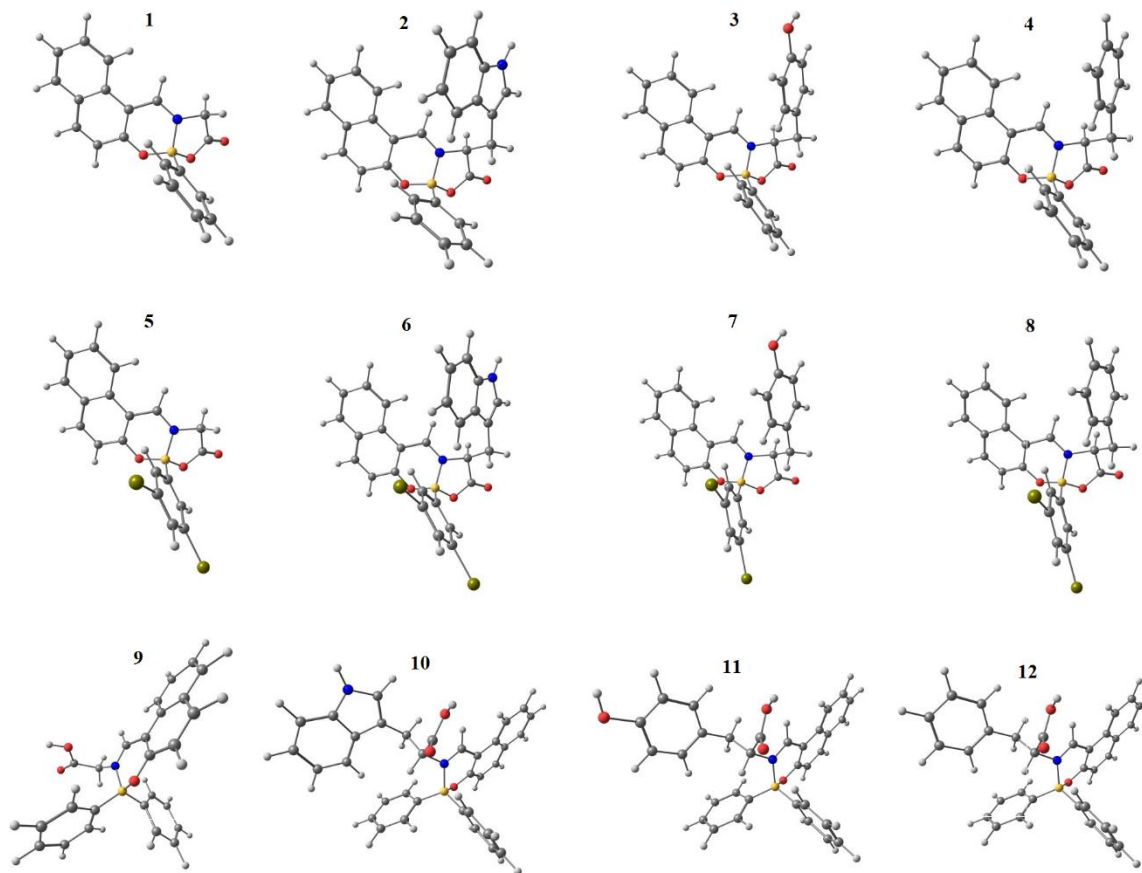


Figura 30. Estructuras optimizadas mediante cálculos DFT de los compuestos **1-12**.

Los orbitales moleculares ocupados más altos (HOMOs) y los orbitales moleculares desocupados más bajos (LUMOs) se denominan orbitales moleculares de frontera (FMO). Los FMO desempeñan un papel importante en las propiedades ópticas y eléctricas, así como en la química cuántica y los espectros UV-VIS.⁶⁹ El HOMO representa la capacidad de donar un electrón, LUMO como aceptor de electrones representa la capacidad de obtener un electrón. La brecha de energía entre HOMO y LUMO es donde pueden ocurrir las excitaciones más probables, por lo tanto, es la brecha energética más importante para

considerar. Para evaluar el comportamiento energético de los compuestos, la brecha energética HOMO-LUMO en el nivel B3LYP/6-31G(d,p). A manera de ejemplo se encuentran representados en la Figura 30 los orbitales HOMO-LUMO de los compuestos **1-4**.

Como se puede observar, en general la distribución electrónica en el LUMO se encuentra mayormente localizada dentro del fragmento aromático, junto con los anillos formados por la coordinación con el átomo de boro, indicando la presencia de un mejor sistema de deslocalización electrónica tras la formación de los complejos, el cual se ve interrumpido con el carbono sp^3 del fragmento del aminoácido. Del mismo modo, en los orbitales HOMO densidad electrónica está distribuida sobre todo el sistema aromático, excepto en el caso del compuesto **2** derivado del triptófano, donde la densidad electrónica esta favorecida en el fragmento indol del aminoácido (Figura 31). El hecho de que el HOMO este fuera del grupo fluoróforo en compuestos derivados del triptófano, podría explicar porque estos compuestos presentan menor rendimiento cuántico y que la excitación electrónica esta favorecida dentro fragmento indol. Cabe resaltar que existe escasa o casi nula información en la literatura acerca de las propiedades fluorescentes en compuestos de coordinación derivados de aminoácidos.

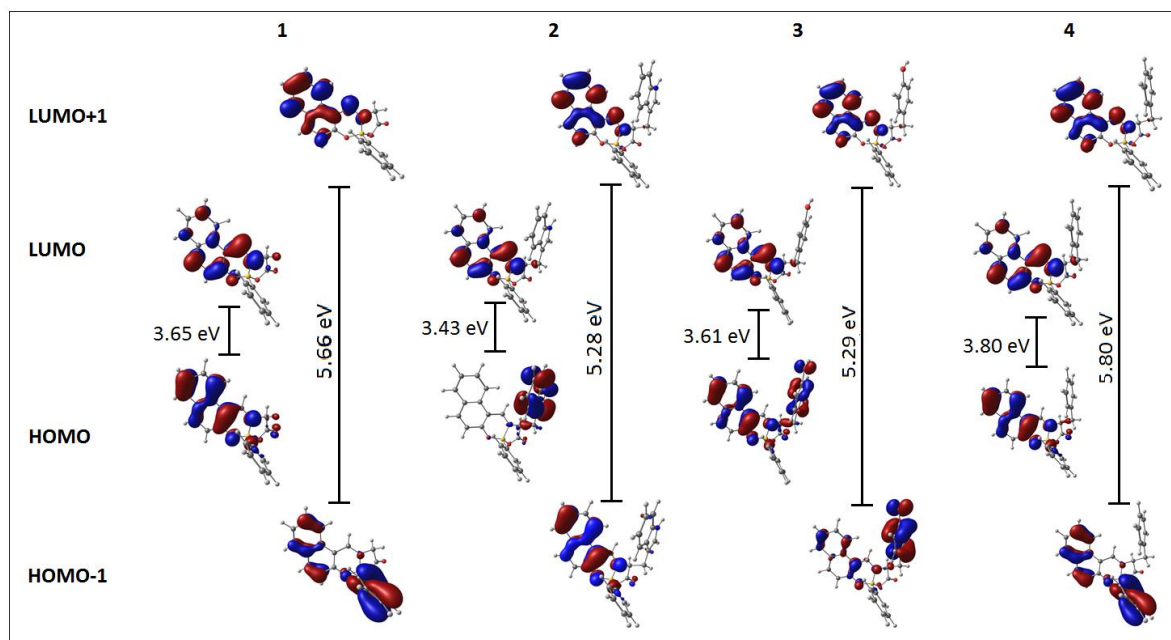


Figura 31 Diagrama de isodensidad de los orbitales HOMO, HOMO-1, LUMO y LUMO+1 de los compuestos **1-4**.

Sin embargo, cuando exploramos orbitales moleculares ocupados de menor energía que el HOMO, encontramos que el HOMO-1 de los compuestos derivados del triptófano poseen el mismo comportamiento que el resto de los compuestos con diferentes aminoácidos en cuanto a su distribución electrónica, pero con una brecha energética más amplia (Figura 32). Esto indica que efectivamente las propiedades fotofísicas se ven comprometidas por la presencia del triptófano. Se sabe que los orbitales HOMO-1 y LUMO+1 pueden participar en la donación y aceptación de electrones, sin embargo, la brecha energética es más grande y por lo tanto requiere de mayor energía para una transición.

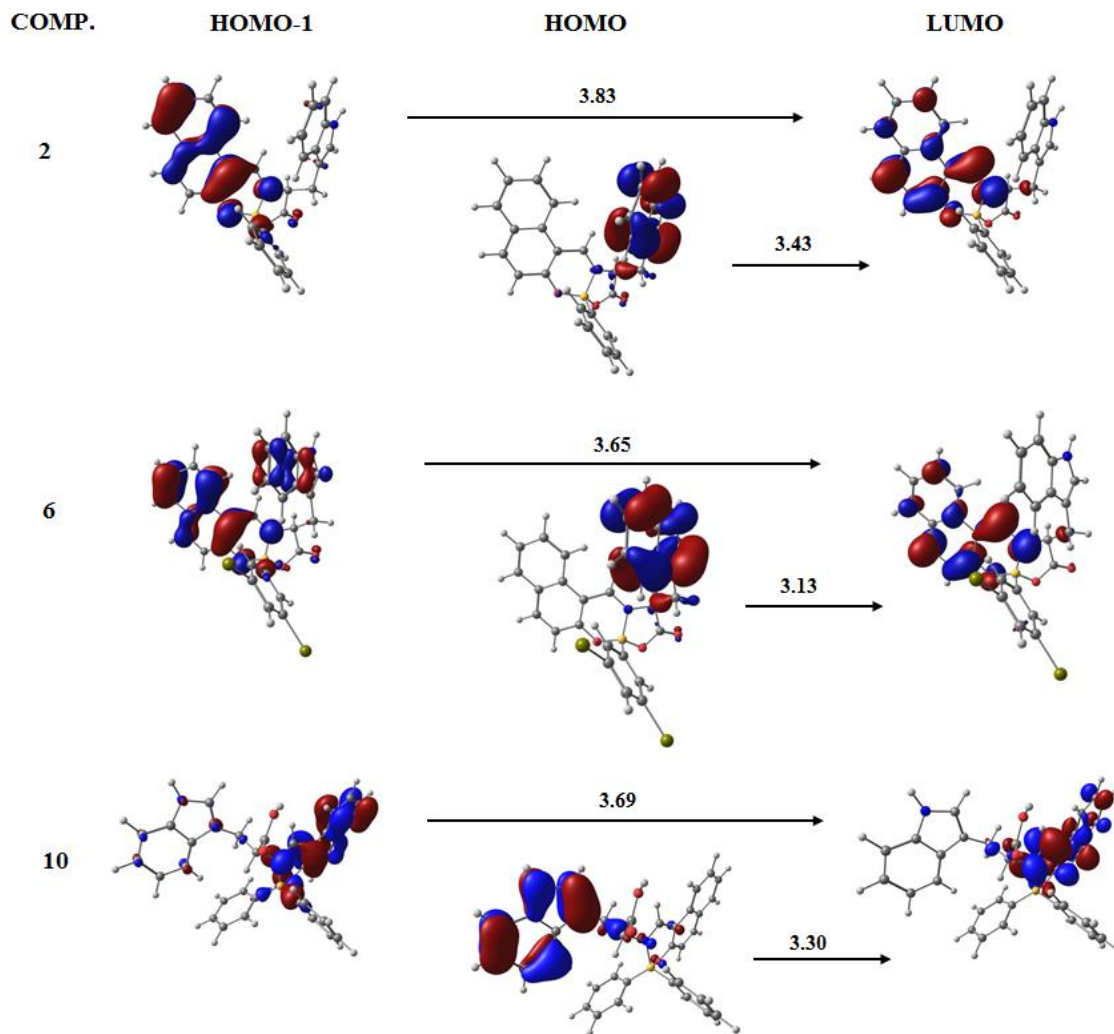


Figura 32. Diagrama de isodensidad para los HOMO-LUMO y HOMO-1 de los compuestos derivados del triptófano y sus valores de la brecha energética

6.6 Evaluación como rotor molecular fluorescente

Con el fin de comprender la capacidad de los compuestos como rotor molecular, se decidió evaluar tanto de forma teórica como experimental, teniendo como objeto de estudio únicamente las moléculas **1-8**, debido que éstos compuestos presentan mayor libertad de rotación por parte del fragmento fenilborónico, y los compuestos **9-12** al tener un gran impedimento estérico, la capacidad de actuar como RMF resulta comprometida.

6.6.1 Evaluación teórica

En orden de confirmar la probabilidad de rotación del fragmento fenilborónico, se determinó la energía relativa de las estructuras rotando el ángulo diedro que comprende el anillo aromático con incrementos cada 20° , usando la misma base teórica descrita anteriormente. Los resultados de estos cálculos pueden ser observados en las Figuras 33 y 34. Cuando exploramos los valores de barrera de energía para los compuestos **1-4**, podemos observar que el compuesto **1** presenta un valor de apenas 2.4 kcal/mol ya que no presenta ninguna restricción por impedimento estérico por parte del fragmento de aminoácido, como se puede observar en el resto de los compuestos, donde se obtienen valores de barrera de energía de hasta 18.0 kcal/mol. A pesar de tener mayor restricción a la rotación, estos pueden considerarse como buenos rotores moleculares, al no considerarse valores de energía muy elevados en comparación a otros estudios sobre RMFs.

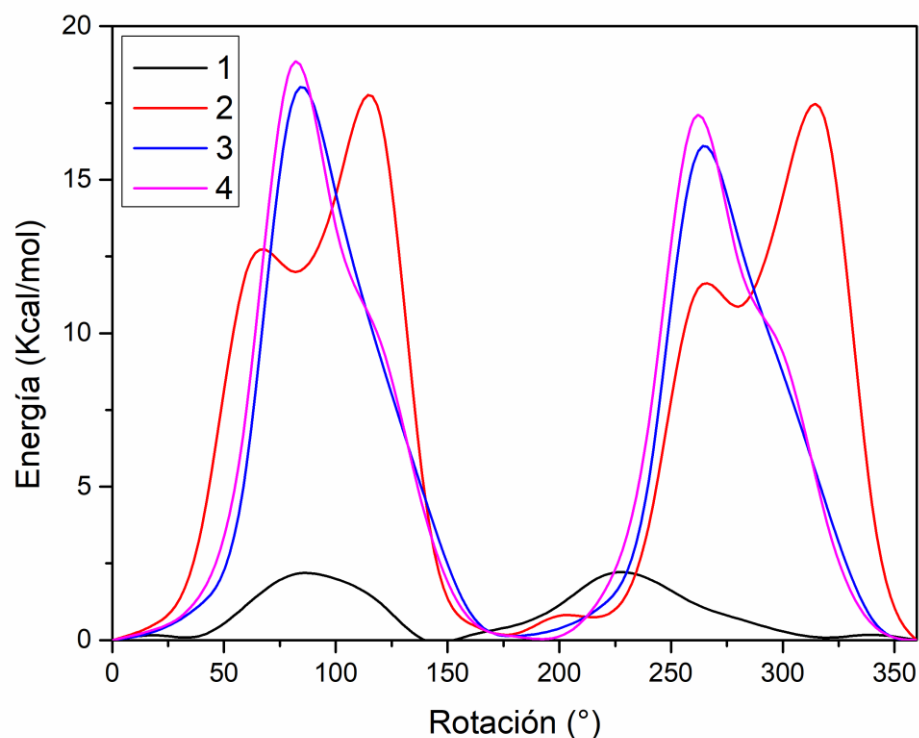


Figura 33. Valores de barrera de energía al rotar el fragmento fenilborónico de los compuestos **1-4**.

Los compuestos **5-8** mostraron un comportamiento similar, siendo el compuesto **6** el de mayor valor de barrera de energía, de 18.5 kcal/mol, esto lo explicamos al fragmento voluminoso del triptófano y los bromuros de arilo (Figura 34). Sin embargo, el compuesto **5** derivado de la glicina, presenta un comportamiento diferente, ya que a la primera variación en la rotación sufre un salto de energía el cual se mantiene casi constante, superior a las 10 kcal/mol, y en los 180° de rotación no se observa que recobre un mínimo de energía como en el resto de los casos, esto podría ser atribuido a la restricción de los grupos bromuro de arilo de gran volumen y que no forma una especie simétrica a la estructura de partida, sino que se obtiene una de mayor impedimento estérico o que se está forzado algún ángulo o distancia de enlace. Sin tomar esta consideración, se puede observar un comportamiento similar entre las distintas estructuras sin efectos importantes de los bromuros de arilo. Por lo cual, para la parte experimental solo se evaluarán los compuestos **1-4**.

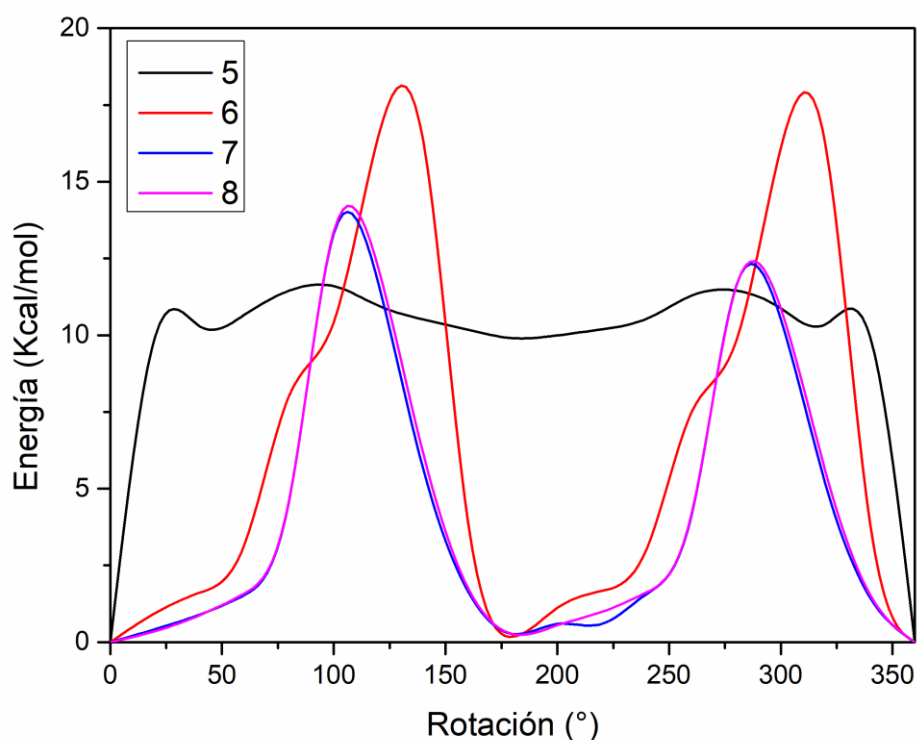


Figura 34. Valores de barrera de energía al rotar el fragmento fenilborónico de los compuestos **5-8**.

6.6.2 Evaluación experimental. Ensayos de viscosidad y explicación mediante DFT.

Con el propósito de determinar la habilidad de censado de viscosidad, se determinaron las propiedades de fluorescencia de los compuestos **1-4** en soluciones binarias de metanol/glicerol a diferentes proporciones, sin embargo, únicamente el compuesto **2** mostró un incremento significativo en la intensidad de fluorescencia conforme la fracción de glicerol aumentaba, mientras que el resto de los compuestos no mostraba ningún cambio importante en su fluorescencia (Figura 35). En el medio de menor viscosidad (sin glicerol), el rendimiento cuántico es menor del 0.04% y tiene un incremento aproximado de 100 veces su valor en el medio de mayor viscosidad empleado (80% glicerol), donde el rendimiento cuántico tiene un valor de 0.40%.

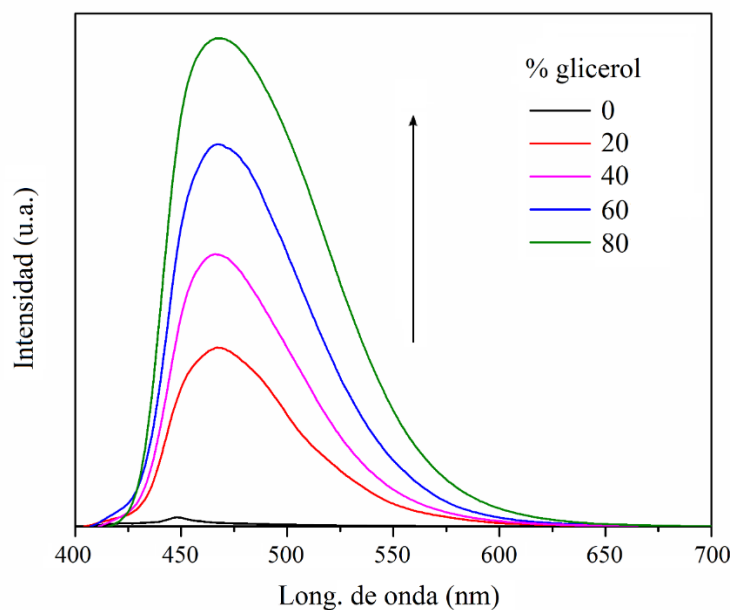
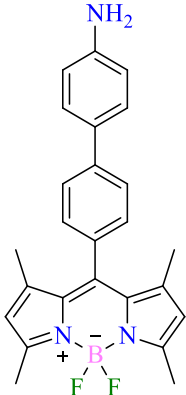
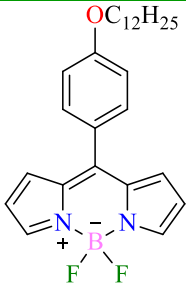
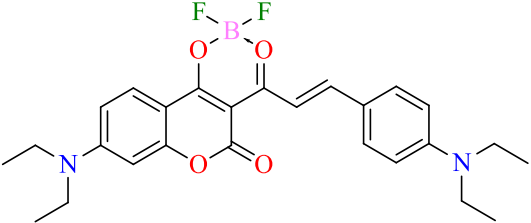
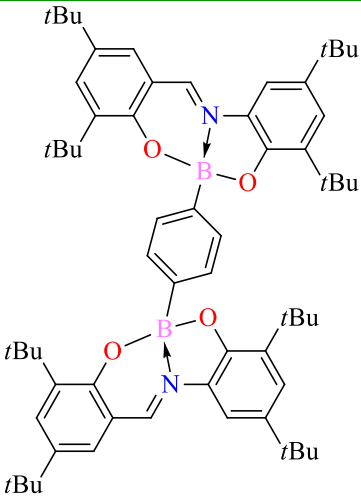
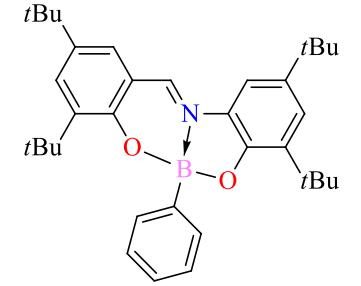
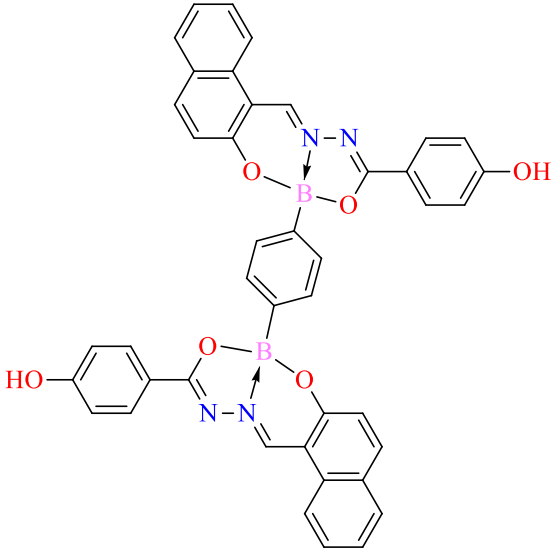


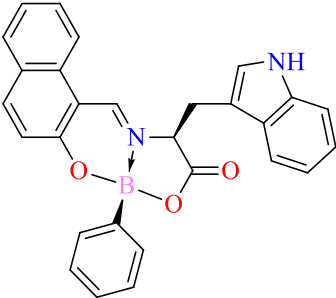
Figura 35. Espectro de emisión del compuesto **2** en mezclas MeOH/glicerol a diferentes relaciones.

Hasta nuestro conocimiento no existe un RMF derivado de compuestos de boro con tal capacidad sensitiva de la viscosidad. En la Tabla 8 se muestran una comparación de la capacidad sensitiva de la viscosidad de algunos rotores moleculares derivados de BODIPYs y dioxaborinos, así como los encontrados previamente para BOSCHIBAs y en la presente investigación.

Tabla 7. Comparación de la capacidad sensitiva de RMFs derivados de compuestos de boro.

Rotor Molecular Fluorescente	Aumento de Φ (No. de veces)	Medio de evaluación de la viscosidad	Referencia
	9.11	0 a 100% fracción MeOH:Glicerol	18
	20.00	0 a 100% fracción MeOH:Glicerol	70
	22.50	0 a 100% fracción MeOH:Glicerol	22

	34.61	0 a 90%	26
		fracción MeOH:Glicerol	
	19.37	0 a 90%	26
		fracción MeOH:Glicerol	
	18.04	0 a 90%	36
		fracción MeOH:Glicerol	

	99.22	0 a 80%	Este
		fracción	trabajo
		MeOH:Glicerol	

Para tener una mejor comprensión del comportamiento exclusivo del compuesto **2** para el censado de la viscosidad, nuevamente nos auxiliamos de los métodos computacionales, donde explorando las estructuras de mínima de energía de **1-4**, obtenidas anteriormente, se puede observar que el fragmento del triptófano en la molécula **2** genera un impedimento estérico significativo sobre el fragmento fenilborónico, causando un ángulo diedro de 73.5° , a diferencia del resto de las estructuras, donde el fragmento de amino ácido no provoca ningún impedimento estérico y el ángulo diedro es muy cercano a los 55° (Ver Anexos). Además, los orbitales de enlace natural (NBOs, por sus siglas en inglés) para las estructuras optimizadas fueron calculados. Los análisis de NBOs indican que existe una gran transferencia de carga intramolecular en todas las moléculas a través de los enlaces $N \rightarrow B$, $O1 \rightarrow B$ y $O2 \rightarrow B$, donde, los átomos de nitrógeno y oxígenos actúan como electrodonadores y el átomo de boro central actúa como un electroatractor. En el caso de las moléculas **1**, **3** y **4**, es observada una mayor transferencia de carga intramolecular (ICT) por parte de los grupos donador-aceptor debido a un óptimo traslape de orbitales, consecuencia de que no tienen un impedimento estérico en comparación con el compuesto **2** derivado del triptófano. Por otro lado, cuando el ángulo diedro del compuesto **2** es modificado y mantenido a 55° y son calculados los NBOs, recobra un óptimo traslape de orbitales y valores similares de transferencia de carga son obtenidos en todas las estructuras.

Dicho en otras palabras, la posible teoría que explique el comportamiento del compuesto **2**, es que el gran impedimento estérico provocado por el triptófano, provoca una modificación en la forma de cómo se transfiere la energía a través del átomo de boro y sus anillos conjugados, teniendo repercusiones en sus propiedades de fluorescencia y observamos un menor rendimiento cuántico, sin embargo cuando se coloca en medios de alta viscosidad, la

movilidad del fragmento del aminoácido se vería comprometida y podría provocar que el fragmento fenilborónico se mantuviera de forma óptima para permitir una mayor fluorescencia.

6.7 Viabilidad celular

Antes de aplicar los compuestos **9**, **10** y **12** como agentes de tinción para producir imágenes fluorescentes en células vivas, evaluamos su efecto citotóxico utilizando un ensayo de viabilidad en un rango de concentración de 0.1-10 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 36). Después de 24 h de incubación con 0.1 y 1 $\mu\text{g/mL}$ de compuesto tratado, la viabilidad celular se reduce aproximadamente un 9%. Se produjo una reducción no significativa de la viabilidad celular cuando la concentración se incrementó a 2.5 $\mu\text{g/mL}$, sin embargo, cuando la concentración se incrementó a 5 mg/mL , la viabilidad celular tuvo una disminución pero sigue siendo superior al 80%. Asimismo, a la concentración más alta de cada compuesto, las viabilidades celulares se conservan por encima del 70%. Estas altas viabilidades podrían atribuirse parcialmente al diseño de la estructura, que incluye tres aminoácidos esenciales que nuestro cuerpo no puede sintetizar y, por lo tanto, no representan una amenaza para la célula. Caso contrario con complejos de estaño, cobre, platino y rutenio derivados de base de Schiff con aminoácidos, donde se puede observar una mayor citotoxicidad en concentraciones similares, esto nos sugiere que los complejos de boro son potenciales candidatos para aplicaciones biológicas.^{68,71,72}

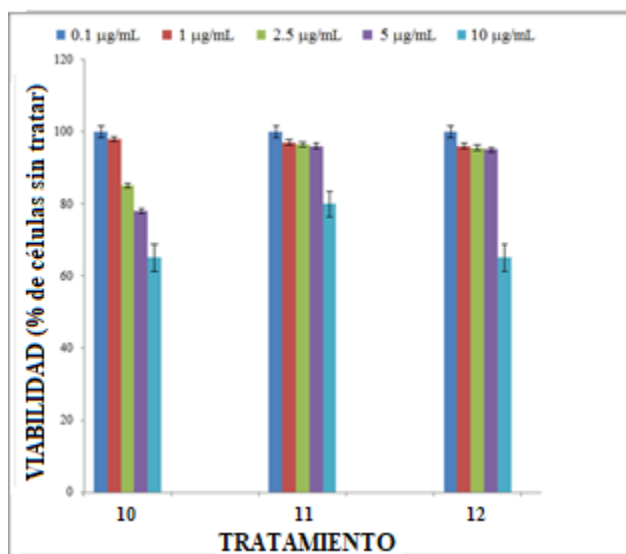


Figura 36. Efecto citotóxico de los compuestos **10-12** a diferentes concentraciones sobre células de melanoma murino B16F10.

6.8 Obtención de bioimágenes fluorescentes

En estudios previos, el grupo de investigación ha reportado una serie de BOSCHIBAs y su aplicación para obtener bioimágenes fluorescentes. En estos reportes se menciona que, con la introducción de sustituyentes voluminosos dentro de la estructura de los compuestos, mejora la captación celular y la citotoxicidad en células de melanoma murino B16F10, sin embargo, al parecer estos grupos voluminosos restringen la localización de las BOSCHIBAs a específicas áreas del citoplasma, sin tinción aparente del material nuclear. Para mejorar esta parte, los grupos voluminosos son reemplazados con cadenas laterales aromáticas, proporcionadas por los respectivos aminoácidos, los cuales pueden mejorar las propiedades biológicas de las BOSCHIBAs aspirando a obtener compuestos con la capacidad de tinción nuclear con alta emisión de fluorescencia.

Los análisis de bioimagen revelan que los compuestos **10** y **12** son capaces de teñir el citoplasma y, de forma destacable, pueden penetrar el núcleo celular y teñir los nucleolos (Figura 37, flechas amarillas). Esta propiedad les confiere a los compuestos fluorescentes de boro sobresalientes aplicaciones biomédicas, debido a la importancia de la identificación y comprensión de los procesos bioquímicos que ocurren dentro de los nucléolos, tal como la transcripción del ARN y la producción y ensamblaje de ribosomas.

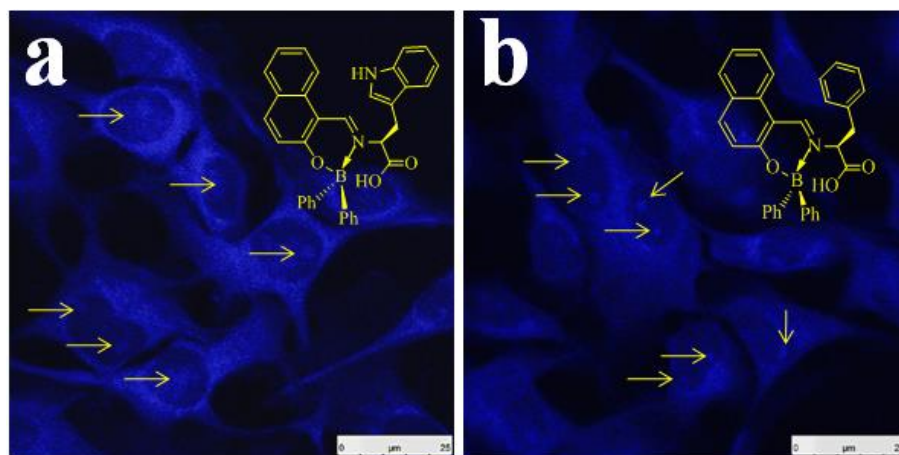


Figura 37. Imágenes fluorescentes de células de melanoma murino B16F10 tratadas con 20 μ L los compuestos 10 (a) y 12 (b) obtenidas por microscopia confocal. Las flechas amarillas indican la tinción de los nucléolos de las células.

En la actualidad existen reportes de síntesis y aplicación de moléculas orgánicas y organometálicas destinadas para la tinción de los nucleolos,^{73–80} si bien muestran buenas propiedades fluorescentes y de selectividad, las BOSCHIBAs empleadas hasta el momento resultan atractivas debido a que se pueden generar en menos pasos de síntesis, síntesis verde y sin la necesidad de atmósferas controladas, produciendo materiales más sustentables y de menor costo de elaboración.

Conclusiones

Se realizó la síntesis de compuestos de boro **1-8** mediante reacción por ultrasonido y síntesis multicomponentes, lo que se traduce a una síntesis sustentable, reduciendo el tiempo de reacción hasta 96 veces comparado con moléculas similares. A pesar de que los compuestos **9-12** fueron sintetizados en dos pasos, su síntesis fue optimizada hasta 48 veces el tiempo de reacción y eliminación de solventes de alta toxicidad, en comparación a otros reportes de compuestos de boro derivados del ácido difenilborónico.

Se observó que la estructura cristalina de **Lig4** está presente como una mezcla racémica en la celda unidad, y destacablemente, fue observado una interacción intermolecular preferencial entre enantiómeros de la misma configuración, dando como resultado un reconocimiento homoenantiomérico.

La estructura cristalina del compuesto **4** se puede observar la libre rotación del fragmento aromático fenilborónico, al encontrar este fragmento en dos posiciones diferentes en el espacio, algo difícil de apreciar en estado sólido. Esto brinda información acerca del comportamiento del compuesto como rotor molecular.

El compuesto **2**, muestra excelentes propiedades para el censado de la viscosidad, aumentando hasta 100 veces el valor de rendimiento cuántico en medios de alta viscosidad. Hasta nuestro conocimiento no existe un RMF con tal capacidad de sensibilidad, incluso comparado con moléculas tipo BODIPY y dioxaborinos, los cuales son mayormente empleados para la cuantificación de la viscosidad a través de la fluorescencia.

Mediante cálculos DFT se propone el mecanismo por el cual el compuesto **2** presenta el comportamiento como RMF, concluyendo a que se debe al efecto de impedimento estérico por parte del fragmento indol que altera las propiedades de transferencia de carga intramolecular (ICT)

Los compuestos **10** y **12** empleados para la producción de bioimágenes tiñen selectivamente el nucleolo de células B16F10 y aunado su baja citotoxicidad, los proyecta como buenos candidatos en aplicaciones biomédicas para el diagnóstico y seguimiento de reacciones bioquímicas que ocurren el núcleo celular.

Artículos publicados

1. J. A. Lara-Cerón, V. M. Jiménez-Pérez, L. Xochicale-Santana, M. E. Ochoa, A. Chávez-Reyes and B. M. Muñoz-Flores, Boron Schiff bases derived from α -amino acids as nucleoli/cytoplasm cell-staining fluorescent probes in vitro, *RSC Adv.*, **2020**, 10, 31748-31757.
2. J. A. Lara-Cerón, V. M. Jiménez-Pérez, A. A. Molina-Paredes, M. E. Ochoa, R. M. Sábio, A. C. Amaral, R. R. da Silva, S. J. L. Ribeiro, H. S. Barud, B. M. Muñoz-Flores Ultrasound-assisted synthesis of organotin compounds and their application as luminescent dye in silk fibroin scaffolds, *Inorg. Chim. Acta*, **2020**, 505, 119490.
3. A. A. Molina Paredes, V. M. Jiménez Pérez, J. A. Lara Cerón, I. Moggio, E. Arias, R. Santillán, M. Sánchez, A. Saucedo Yañez, B. M. Muñoz Flores. Fluorescent boron Schiff bases dyes for staining silk fibroin: Green synthesis, structural characterization, DFT, and photophysical properties. *Appl. Organometal. Chem.*, **2019**; 33, e4609.
4. Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz, Jesús Lara-Cerón, Rosa Santillán, María E. Ochoa, Mario Sánchez, Víctor M. Jiménez Pérez. Synthesis, characterization, X-ray structure, and conformation DFT calculation of a carbonylhydrazide derivative. *J. Chem. Crystallogr.*, **2019**, 49, 92-97.
5. Marisol Ibarra-Rodríguez, Blanca M. Muñoz-Flores, Jesús Lara Cerón, Rosa Santillán, María E. Ochoa, Noemí Waksman, and Víctor M. Jiménez-Pérez. Centrosymmetric Binuclear Boron Compounds Derived from Dithiooxamides: Synthesis, Characterization, and Their Photophysical Properties. *J. Chem.*, **2018**, 2018, 1-10.
6. J. A. Lara-Cerón, V. M. Jiménez-Pérez, A. A. Molina-Paredes, H. V. Rasika-Dias, A. Chávez-Reyes, H. R. Paudel, M. E. Ochoa, and B. M. Muñoz-Flores. Luminescent Silk Fibroin with Organotin Compounds from Amino Acid Schiff Bases—Microwave-Assisted Synthesis, Chemo-Optical Characterization, Cytotoxicity, and Confocal Microscopy. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 2017, 2818–2827.

Referencias

- 1 H. P. Kao, J. R. Abney and A. S. Verkman, *J. Cell Biol.*, 1993, **120**, 175–184.
- 2 M. K. Kuimova, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 12671–12686.
- 3 Z. Yang, J. Cao, Y. He, J. H. Yang, T. Kim, X. Peng and J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 4563–4601.
- 4 T. Kowada, H. Maeda and K. Kikuchi, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**, 4953–4972.
- 5 L. M. Rebelo, J. S. De Sousa, J. Mendes Filho and M. Radmacher, *Nanotechnology*, 2013, **24**, 1–12.
- 6 Z. Yang, Y. He, J. H. Lee, N. Park, M. Suh, W. S. Chae, J. Cao, X. Peng, H. Jung, C. Kang and J. S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 9184–9185.
- 7 Z. Yang, Y. He, J. H. Lee, W. S. Chae, W. X. Ren, J. H. Lee, C. Kang and J. S. Kim, *Chem. Commun.*, 2014, **50**, 11672–11675.
- 8 I. López-Duarte, T. T. Vu, M. A. Izquierdo, J. A. Bull and M. K. Kuimova, *Chem. Commun.*, 2014, **50**, 5282–5284.
- 9 M. A. Haidekker, T. P. Brady, D. Lichlyter and E. A. Theodorakis, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 398–399.
- 10 T. Liu, X. Liu, D. R. Spring, X. Qian, J. Cui and Z. Xu, *Sci. Rep.*, 2014, **4**, 1–7.
- 11 Y. Zhao, C. Y. Y. Yu, R. T. K. Kwok, Y. Chen, S. Chen, J. W. Y. Lam and B. Z. Tang, *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**, 4993–4996.
- 12 W. T. Yu, T. W. Wu, C. L. Huang, I. C. Chen and K. T. Tan, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 301–307.
- 13 H. P. Lai, R. C. Gao, C. L. Huang, I. C. Chen and K. T. Tan, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 16197–16200.
- 14 S. I. Reja, I. A. Khan, V. Bhalla and M. Kumar, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 1182–1185.

- 15 A. Vyšniauskas, M. Qurashi, N. Gallop, M. Balaz, H. L. Anderson and M. K. Kuimova, *Chem. Sci.*, 2015, **6**, 5773–5778.
- 16 N. Gupta, S. I. Reja, V. Bhalla, M. Gupta, G. Kaur and M. Kumar, *Chem. Commun.*, 2015, **51**, 10875–10878.
- 17 H. Zhu, J. Fan, M. Li, J. Cao, J. Wang and X. Peng, *Chem. - A Eur. J.*, 2014, **20**, 4691–4696.
- 18 N. Gupta, S. I. Reja, V. Bhalla, M. Gupta, G. Kaur and M. Kumar, *J. Mater. Chem. B*, 2016, **4**, 1968–1977.
- 19 D. Ding, J. Liang, H. Shi, R. T. K. Kwok, M. Gao, G. Feng, Y. Yuan, B. Z. Tang and B. Liu, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 231–238.
- 20 T. T. Vu, R. Méallet-Renault, G. Clavier, B. A. Trofimov and M. K. Kuimova, *J. Mater. Chem. C*, 2016, **4**, 2828–2833.
- 21 S. C. Lee, J. Heo, J. W. Ryu, C. L. Lee, S. Kim, J. S. Tae, B. O. Rhee, S. W. Kim and O. P. Kwon, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 13695–13698.
- 22 I. A. Karpenko, Y. Niko, V. P. Yakubovskiy, A. O. Gerasov, D. Bonnet, Y. P. Kovtun and A. S. Klymchenko, *J. Mater. Chem. C*, 2016, **4**, 3002–3009.
- 23 J. D. Kimball, S. Raut, L. P. Jameson, N. W. Smith, Z. Gryczynski and S. V. Dzyuba, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 19508–19511.
- 24 S. L. Raut, J. D. Kimball, R. Fudala, I. Bora, R. Chib, H. Jaafari, M. K. Castillo, N. W. Smith, I. Gryczynski, S. V. Dzyuba and Z. Gryczynski, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2016, **18**, 4535–4540.
- 25 S. C. Lee, C. L. Lee, J. Heo, C. U. Jeong, G. H. Lee, S. Kim, W. Yoon, H. Yun, S. O. Park, S. K. Kwak, S. H. Park and O. P. Kwon, *Chem. - A Eur. J.*, 2018, **24**, 2888–2897.
- 26 M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, H. V. R. Dias, M. Sánchez, A. Gomez-Treviño, R. Santillan, N. Farfán and V. M. Jiménez-Pérez, *J. Org. Chem.*, 2017, **82**, 2375–2385.

- 27 M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, A. Gómez-Treviño, R. Chan-Navarro, J. C. Berrones-Reyes, A. Chávez-Reyes, H. V. R. Dias, M. Sánchez Vázquez and V. M. Jiménez-Pérez, *Appl. Organomet. Chem.*, 2019, **33**, 4718.
- 28 Y. Shimazaki, M. Takani and O. Yamauchi, *Dalt. Trans.*, 2009, 7854–7869.
- 29 S. Tabassum, A. Asim, R. A. Khan, Z. Hussain, S. Srivastav, S. Srikrishna and F. Arjmand, *Dalt. Trans.*, 2013, **42**, 16749–16761.
- 30 R. F. Chen, *Anal. Lett.*, 1967, **1**, 35–42.
- 31 L. Wang, Y. Xiao, W. Tian and L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013, **135**, 2903–2906.
- 32 H. Wang, Y. Wu, Y. Shi, P. Tao, X. Fan, X. Su and G. C. Kuang, *Chem. - A Eur. J.*, 2015, **21**, 3219–3223.
- 33 L. L. Li, K. Li, M. Y. Li, L. Shi, Y. H. Liu, H. Zhang, S. L. Pan, N. Wang, Q. Zhou and X. Q. Yu, *Anal. Chem.*, 2018, **90**, 5873–5878.
- 34 S. C. Lee, J. Heo, H. C. Woo, J. A. Lee, Y. H. Seo, C. L. Lee, S. Kim and O. P. Kwon, *Chem. - A Eur. J.*, 2018, **24**, 13706.
- 35 Y. Zhou, Y. Z. Chen, J. H. Cao, Q. Z. Yang, L. Z. Wu, C. H. Tung and D. Y. Wu, *Dye. Pigment.*, 2015, **112**, 162–169.
- 36 M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, R. Chan-Navarro, N. Waksman, A. Saucedo-Yañez, M. Sánchez and V. M. Jiménez-Pérez, *Opt. Mater. (Amst.)*, 2019, **89**, 123–131.
- 37 A. Mermer, N. Demirbas, H. Uslu, A. Demirbas, S. Ceylan and Y. Sirin, *J. Mol. Struct.*, 2019, **1181**, 412–422.
- 38 A. K. Singh, S. Thakur, B. Pani, E. E. Ebenso, M. A. Quraishi and A. K. Pandey, *ACS Omega*, 2018, **3**, 4695–4705.
- 39 N. Zare and A. Zabardasti, *Appl. Organomet. Chem.*, 2019, **33**, e4687.
- 40 M. Montazerozohori, S. Farokhiyani, A. Masoudiasl and J. M. White, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 23866–23878.

- 41 J. C. Berrones-Reyes, B. M. Muñoz-Flores, A. Molina-Paredes, M. Ibarra Rodríguez, A. Rodríguez-Ortega, H. V. R. Dias and V. M. Jiménez-Pérez, *New J. Chem.*, 2019, **43**, 5150–5158.
- 42 J. A. Lara-Cerón, V. M. Jiménez-Pérez, A. A. Molina-Paredes, M. E. Ochoa, R. M. Sábio, A. C. Amaral, R. R. da Silva, S. J. L. Ribeiro, H. da S. Barud and B. M. Muñoz-Flores, *Inorganica Chim. Acta*, 2020, **505**, 119490.
- 43 Ş. C. Başeren, A. Erdoğmuş and A. Gül, *J. Organomet. Chem.*, 2018, **886**, 105–111.
- 44 F. Sevgi, U. Bagkesici, A. N. Kursunlu and E. Guler, *J. Mol. Struct.*, 2018, **1154**, 256–260.
- 45 G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A*, 1990, **46**, 467–473.
- 46 G. M. Sheldrick, *A short Hist. SHELX*, 2008, **64**, 112–122.
- 47 L. J. Farrugia, *J. Appl. Crystallogr.*, 1999, **32**, 837–838.
- 48 A. T. R. Williams, S. A. Winfield and J. N. Miller, *Analyst*, 1983, **108**, 1067–1071.
- 49 D. J. F. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Had, *Gaussian Inc., Wallingford*, 2013.
- 50 A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648–5652.
- 51 C. Lee, W. Yang and R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 1988, **37**, 785–789.
- 52 W. J. Hehre, K. Ditchfield and J. A. Pople, *J. Chem. Phys.*, 1972, **56**, 2257–2261.
- 53 B. Silvi and A. Savin, *Nature*, 1994, **371**, 683–686.
- 54 H. Höpfl, *J. Organomet. Chem.*, 1999, **581**, 129–149.
- 55 P. Sanphui, G. Bolla, U. Das, A. K. Mukherjee and A. Nangia, *CrystEngComm*, 2013, **15**, 34–38.
- 56 C. K. Rank, T. Wall, F. Dietrich, M. Vidovic, M. P. Klein, Y. Sun, G. Niedner-

- Schatteburg, M. Gerhards and F. W. Patureau, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2018, **2018**, 1394–1398.
- 57 Ł. Wołoszyn and M. M. Ilczyszyn, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2018, **193**, 156–168.
- 58 G. Wu, I. Hung, Z. Gan, V. Terskikh and X. Kong, *J. Phys. Chem. A*, 2019, **123**, 8243–8253.
- 59 G. Warncke, S. Fels, E. Brendler and U. Böhme, *J. Mol. Struct.*, 2016, **1117**, 37–48.
- 60 Y. H. Ebead, H. M. A. Salman and M. A. Abdellah, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2010, **31**, 850–858.
- 61 M. Gao, S. B. Thorpe and W. L. Santos, *Org. Lett.*, 2009, **11**, 3478–3481.
- 62 X. Yin, K. Liu, Y. Ren, R. A. Lalancette, Y. L. Loo and F. Jäkle, *Chem. Sci.*, 2017, **8**, 5497–5505.
- 63 B. Geeta, K. Shravankumar, P. M. Reddy, E. Ravikrishna, M. Sarangapani, K. K. Reddy and V. Ravinder, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2010, **77**, 911–915.
- 64 M. Premkumar, P. Vijayan and G. Venkatachalam, *J. Organomet. Chem.*, 2019, **902**, 120964.
- 65 Y. Hiraga, S. Chaki and S. Niwayama, *Tetrahedron Lett.*, 2017, **58**, 4677–4681.
- 66 S. Patterson-Elenbaum, J. T. Stanley, D. K. Dillner, S. Lin and D. Traficante, *Magn. Reson. Chem.*, 2006, **44**, 797–806.
- 67 Y. Nishiyama, Y. Inagaki, K. Yamaguchi and W. Setaka, *J. Org. Chem.*, 2015, **80**, 9959–9966.
- 68 J. A. Lara-Cerón, V. Jiménez-Pérez, A. A. Molina-Paredes, H. V. Rasika, A. Chávez-Reyes, H. R. Paudel, M. E. Ochoa and B. M. Muñoz-Flores, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2017, **2017**, 2818–2827.
- 69 A. Suvitha, S. Periandy, S. Boomadevi and M. Govindarajan, *Spectrochim. Acta - Part*

- A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2014, **117**, 216–224.
- 70 J. A. Levitt, M. K. Kuimova, G. Yahiolu, P. H. Chung, K. Suhling and D. Phillips, *J. Phys. Chem. C*, 2009, **113**, 11634–11642.
 - 71 A. Alsalme, S. Laeeq, S. Dwivedi, M. S. Khan, K. Al Farhan, J. Musarrat and R. A. Khan, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2016, **163**, 1–7.
 - 72 M. Malakyan, N. Babayan, R. Grigoryan, N. Sarkisyan, V. Tonoyan, D. Tadevosyan, V. Matosyan, R. Aroutiounian and A. Arakelyan, *F1000Research*, 2016, **5**, 1921.
 - 73 J. Yu, D. Parker, R. Pal, R. A. Poole and M. J. Cann, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 2294–2299.
 - 74 K. Y. Zhang, S. P. Y. Li, N. Zhu, L. W. S. Or, M. S. H. Cheung, Y. W. Lam and K. K. W. Lo, *Inorg. Chem.*, 2010, **49**, 2530–2540.
 - 75 J. Wang, S. Sun, D. Mu, J. Wang, W. Sun, X. Xiong, B. Qiao and X. Peng, *Organometallics*, 2014, **33**, 2681–2684.
 - 76 J. T. Miao, C. Fan, R. Sun, Y. J. Xu and J. F. Ge, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 7065–7072.
 - 77 G. Song, Y. Sun, Y. Liu, X. Wang, M. Chen, F. Miao, W. Zhang, X. Yu and J. Jin, *Biomaterials*, 2014, **35**, 2103–2112.
 - 78 Y. Liu, W. Zhang, Y. Sun, G. Song, F. Miao, F. Guo, M. Tian, X. Yu and J. Z. Sun, *Dye. Pigment.*, 2014, **103**, 191–201.
 - 79 R. Feng, L. Li, B. Li, J. Li, D. Peng, Y. Yu, Q. Mu, N. Zhao, X. Yu and Z. Wang, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 16730–16736.
 - 80 H. Li, Y. Li, H. Zhang, G. Xu, Y. Zhang, X. Liu, H. Zhou, X. Yang, X. Zhang and Y. Tian, *Chem. Commun.*, 2017, **53**, 13245–13248.

CAPÍTULO 7

ANEXOS

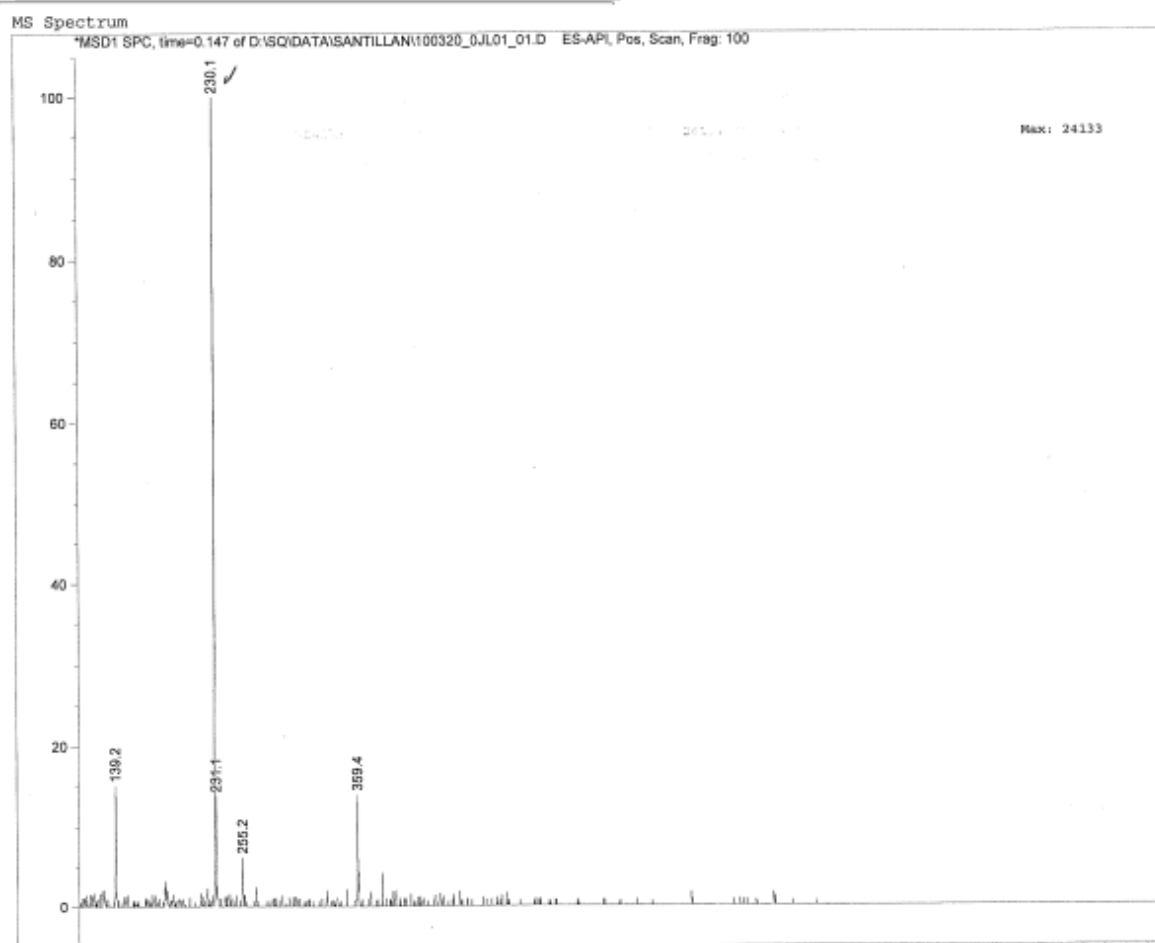


Figura 38. Espectro de masas para el ligante **Lig1**.

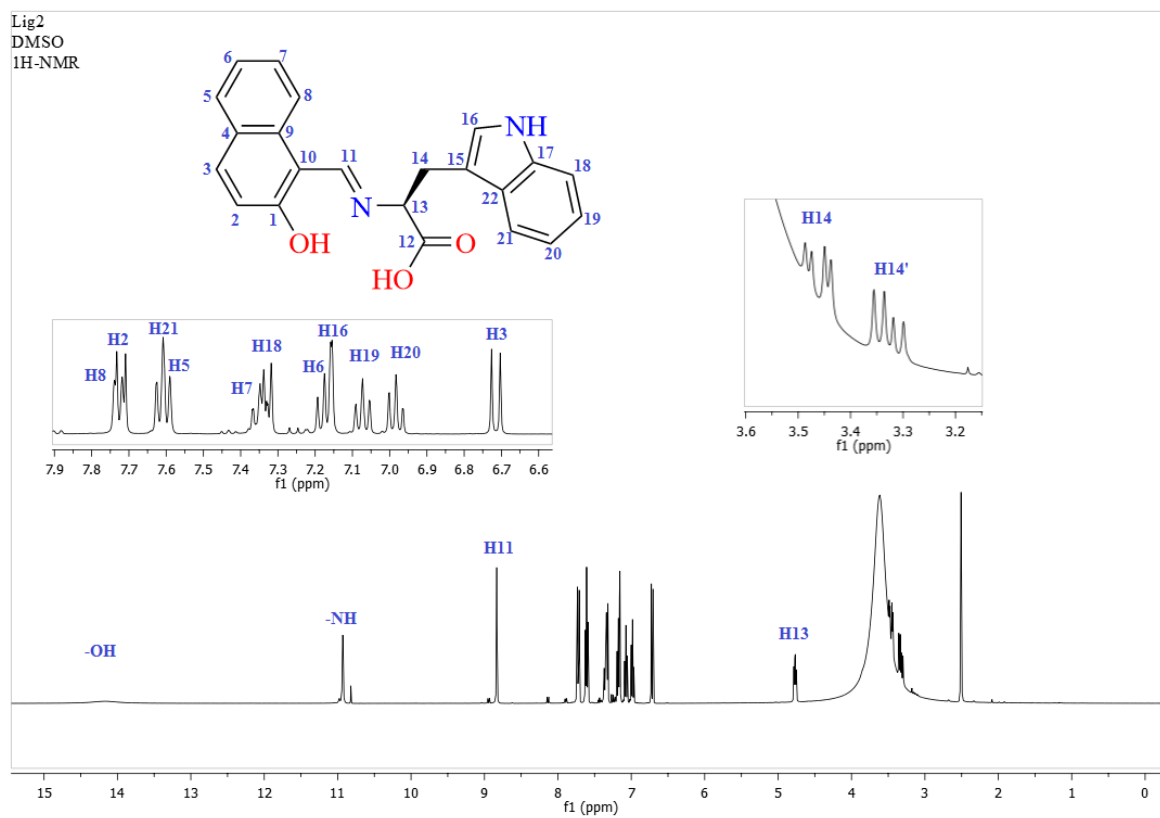


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H para el ligante **Lig2** en DMSO a 400 MHz.

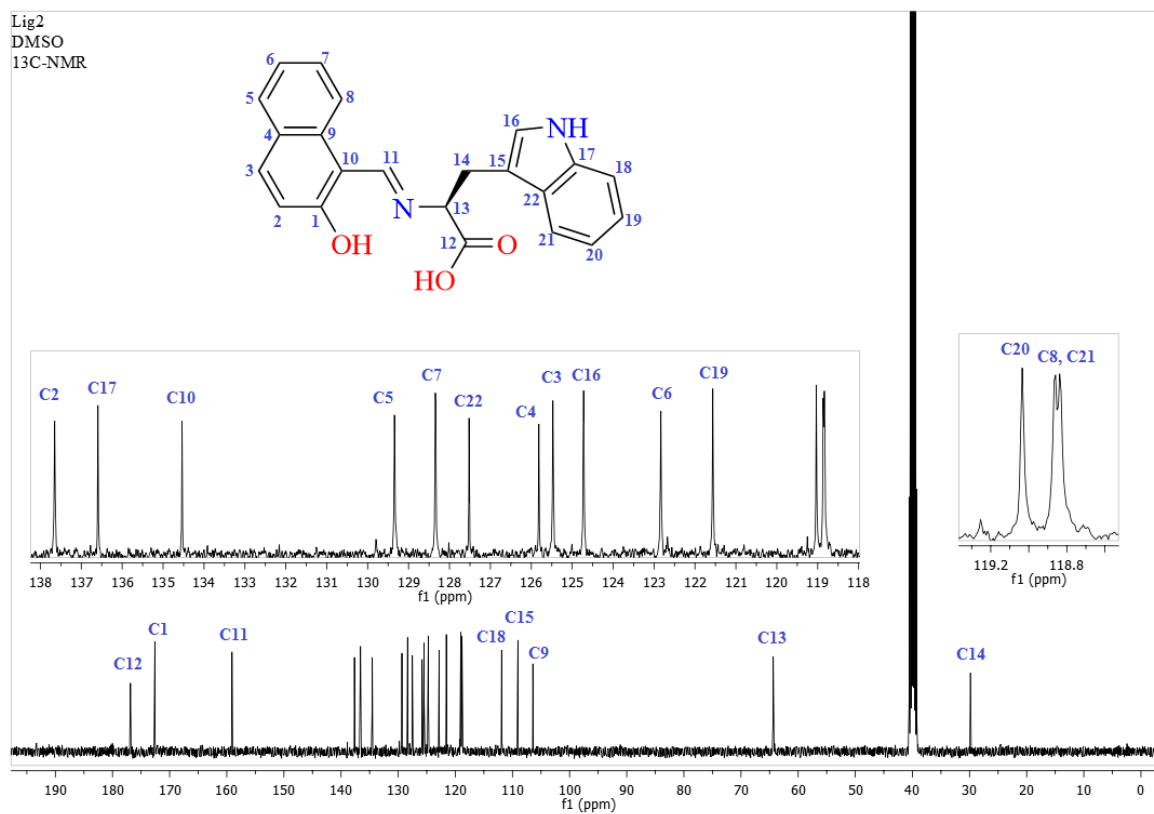


Figura 40. Espectro de RMN de ¹³C para el ligante **Lig2** en DMSO a 100 MHz.

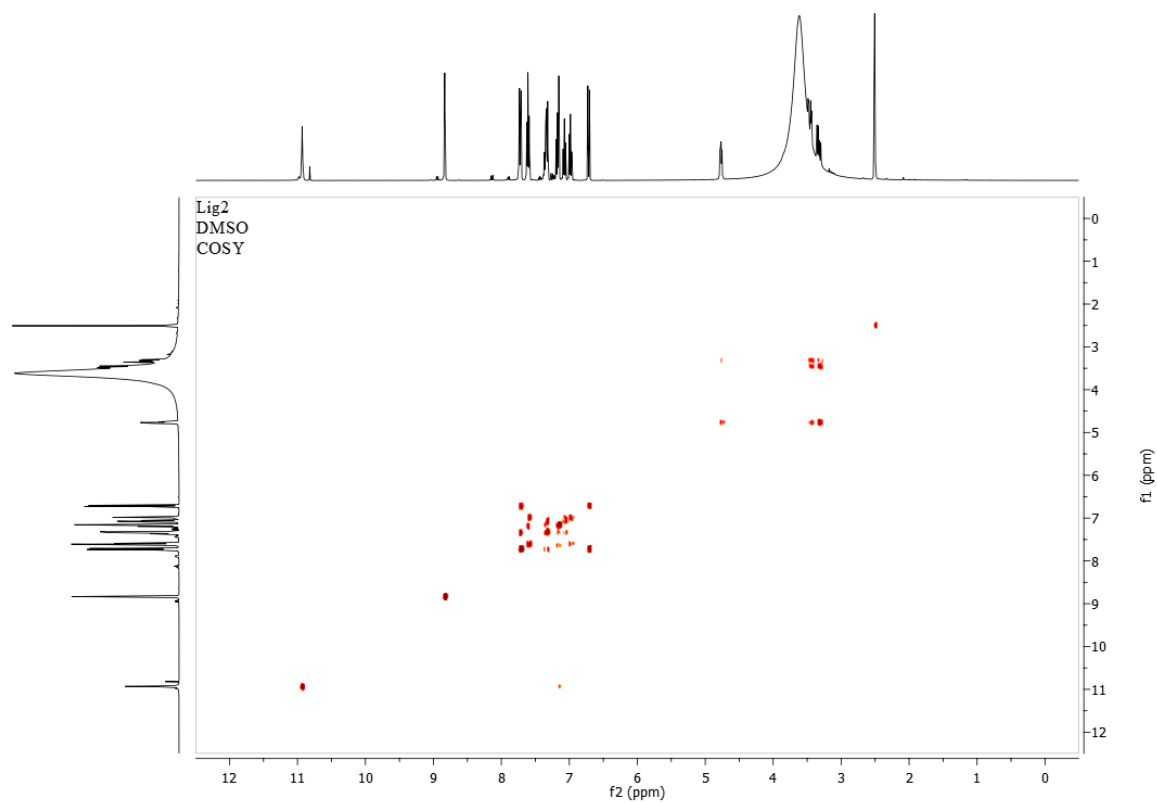


Figura 41. Espectro COSY para el ligante **Lig2** en DMSO.

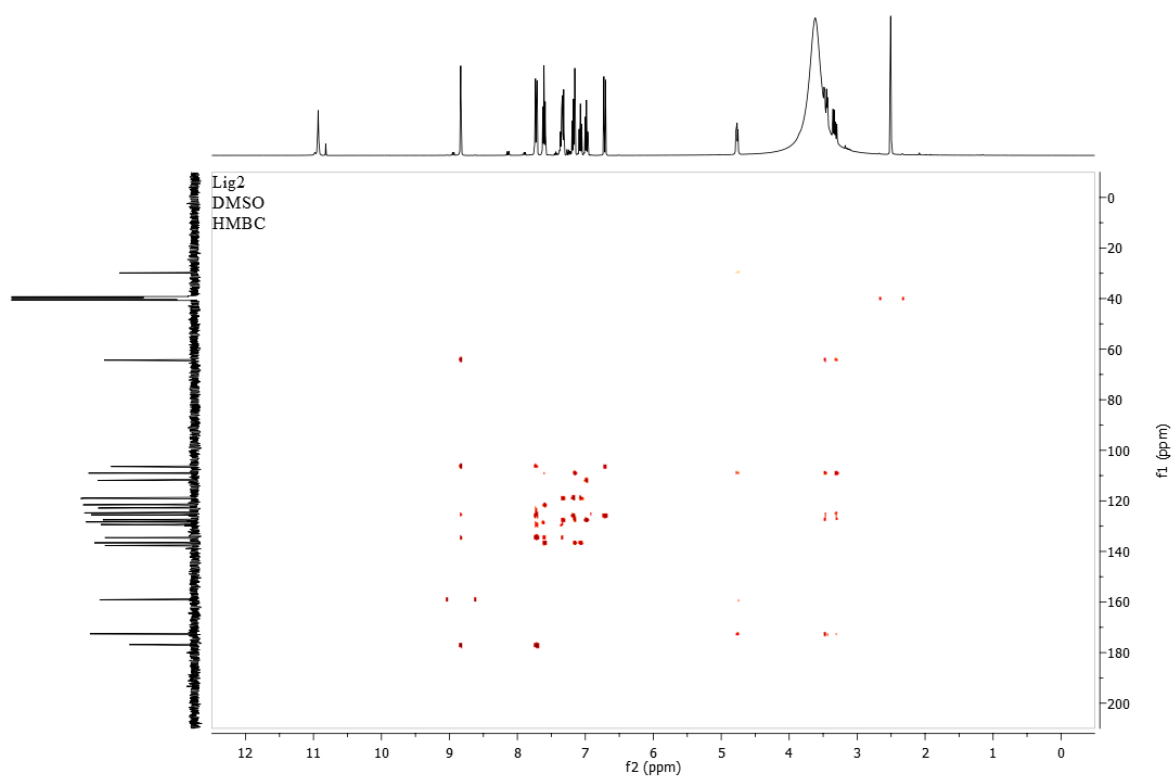


Figura 42. Espectro HMBC para el ligante **Lig2** en DMSO.

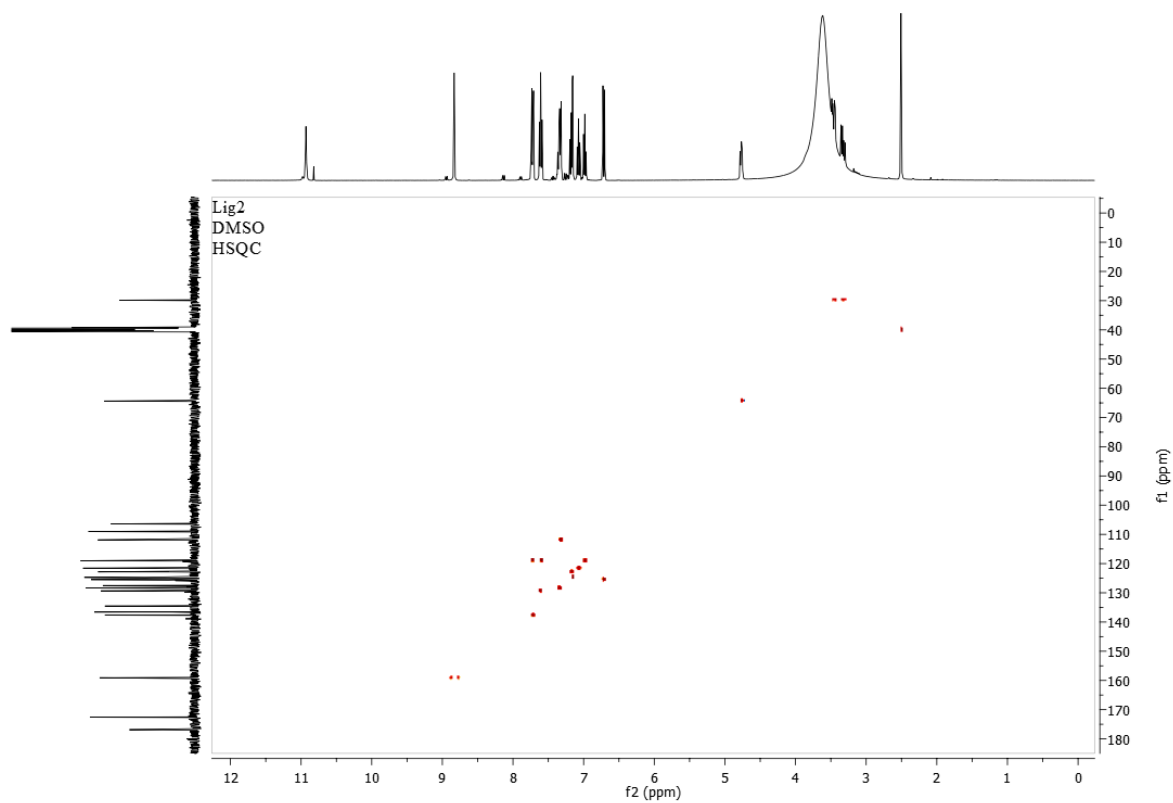


Figura 43. Espectro HSQC para el ligante **Lig2** en DMSO.

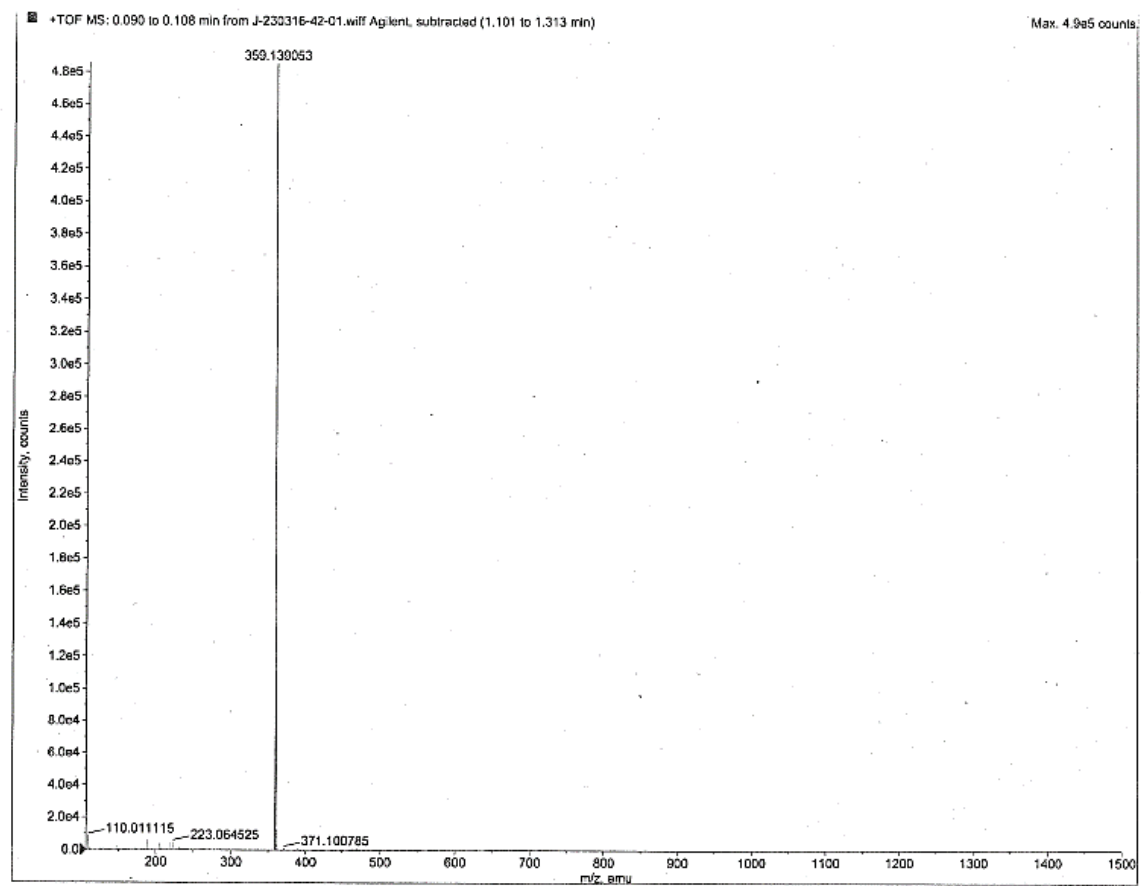


Figura 44. Espectro de masas para el ligante **Lig2**.

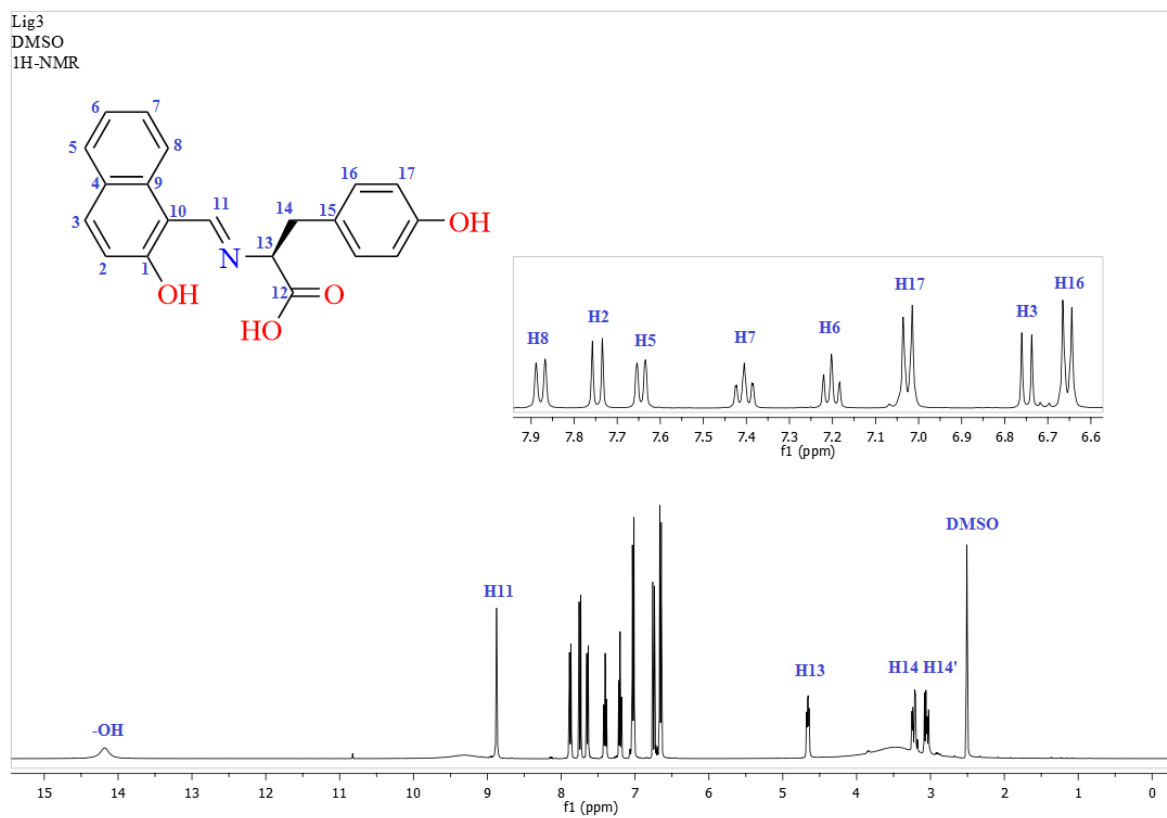


Figura 45. Espectro de RMN de ¹H para el ligante **Lig3** en DMSO a 400 MHz.

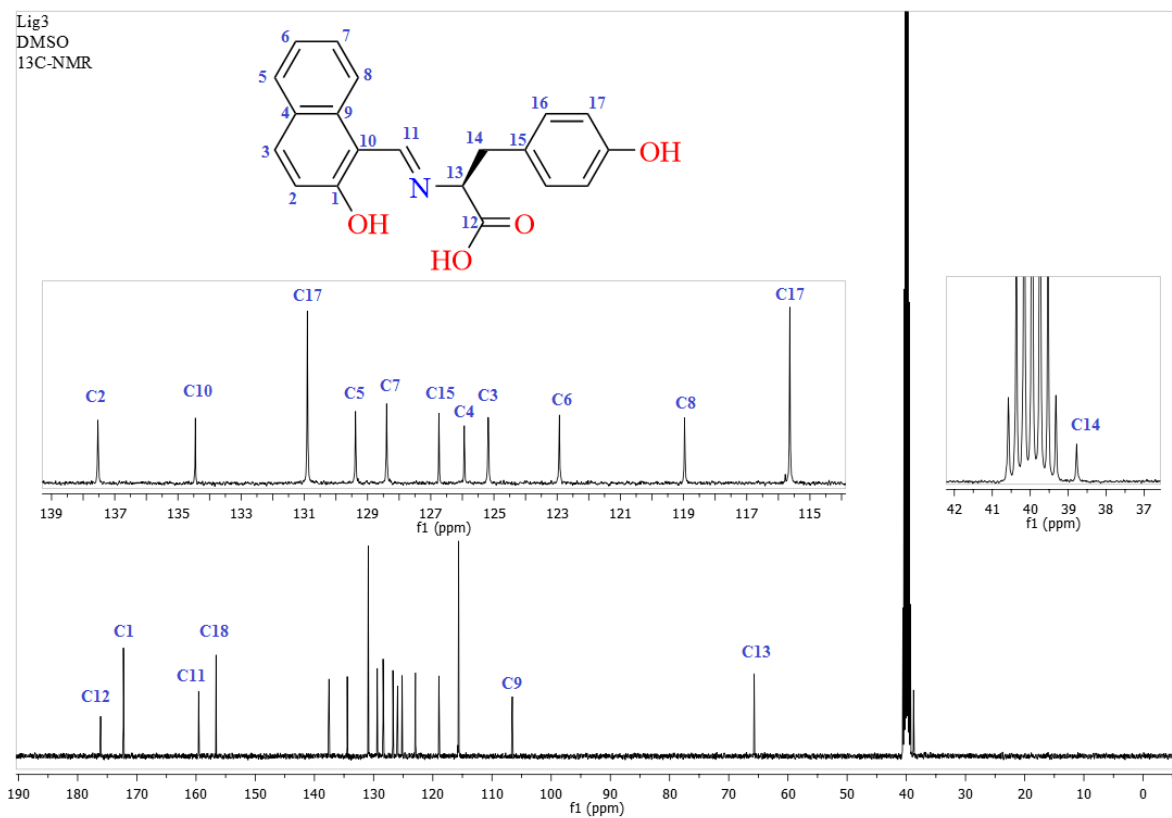


Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C para el ligante **Lig3** en DMSO a 100 MHz.

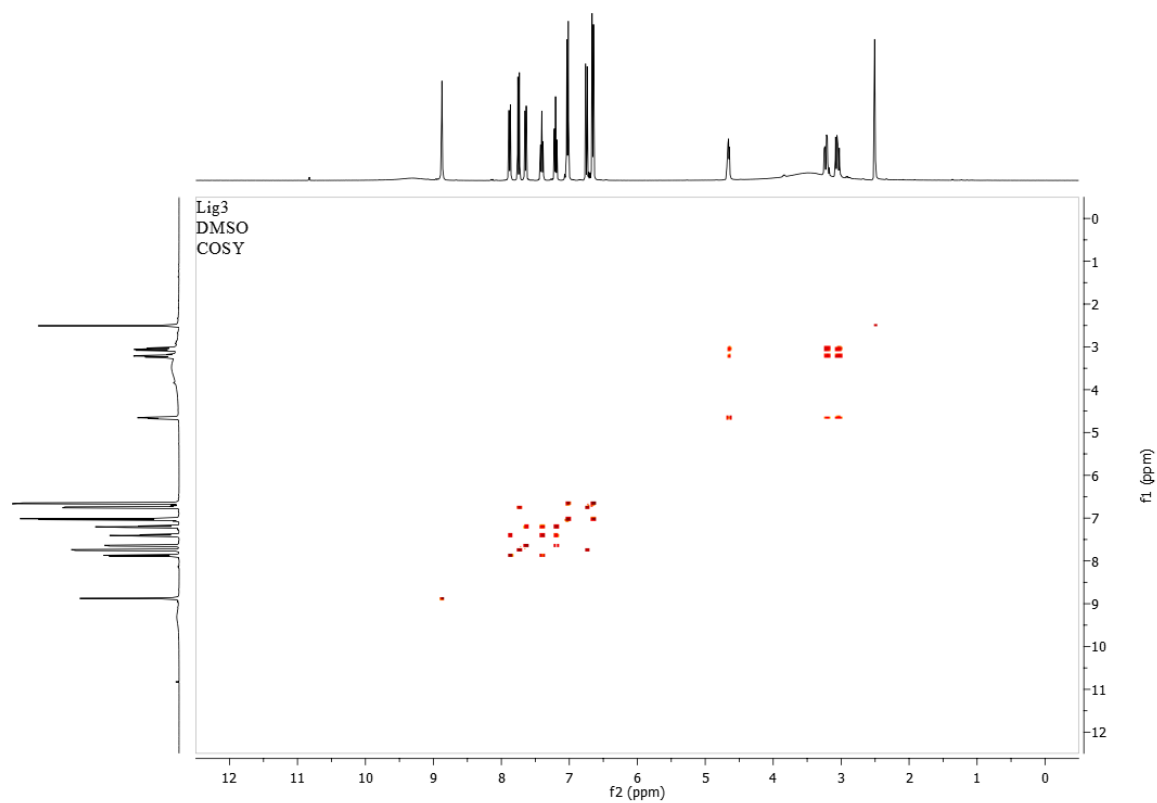


Figura 47. Espectro COSY para el ligante **Lig3** en DMSO.

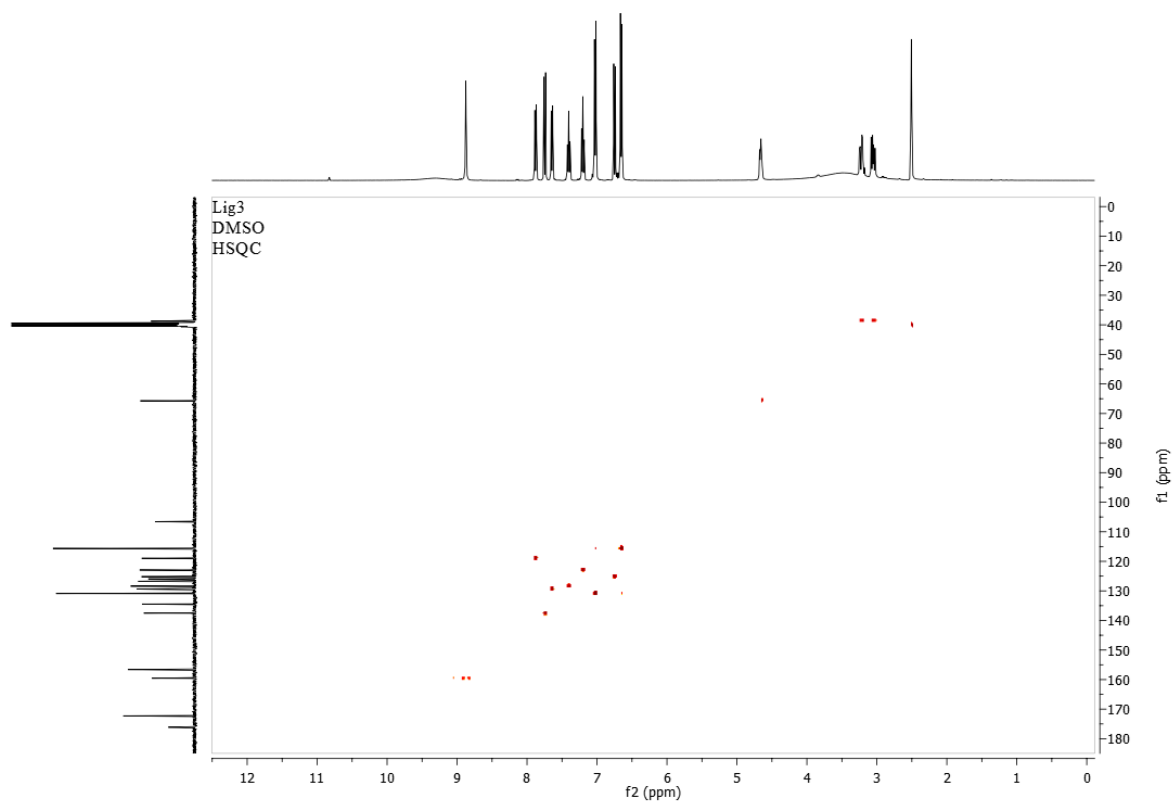


Figura 48. Espectro HSQC para el ligante **Lig3** en DMSO.

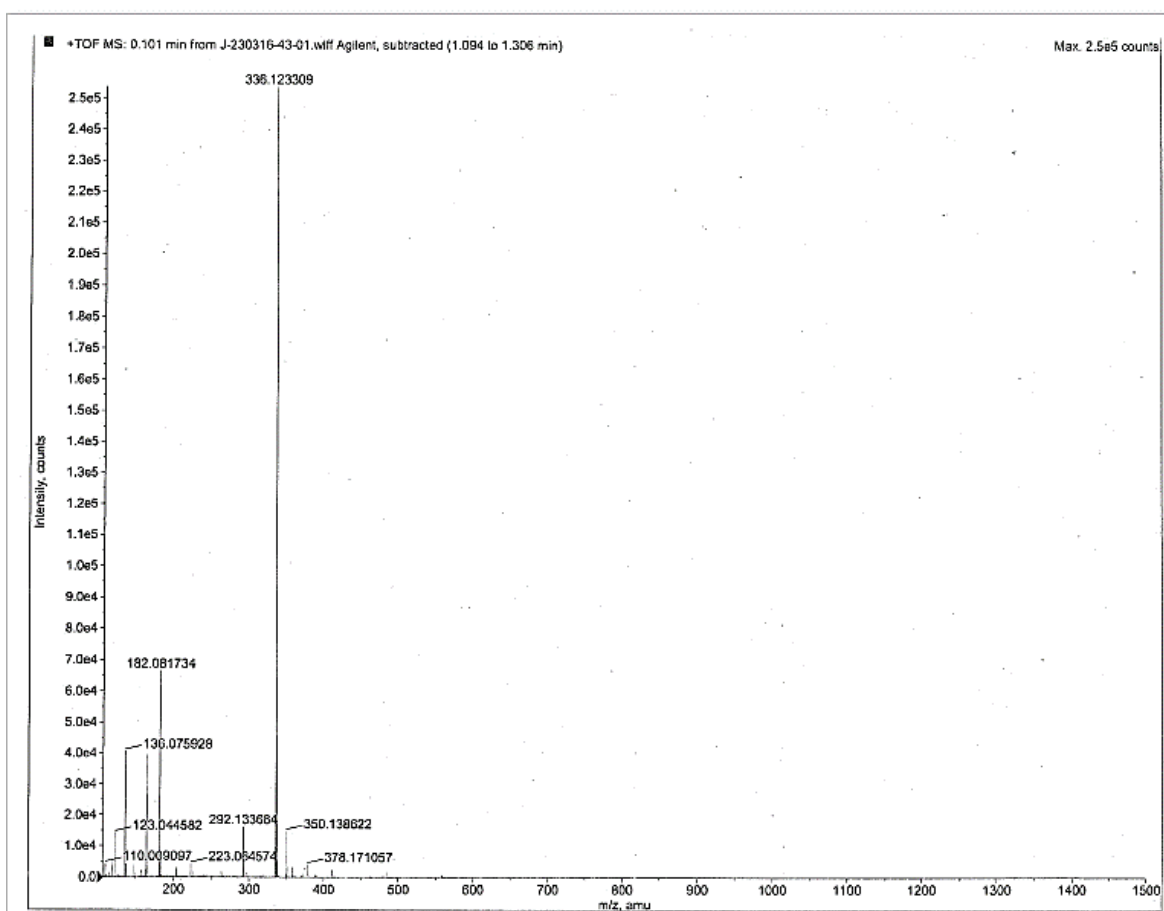


Figura 49. Espectro de masas para el ligante **Lig3**.

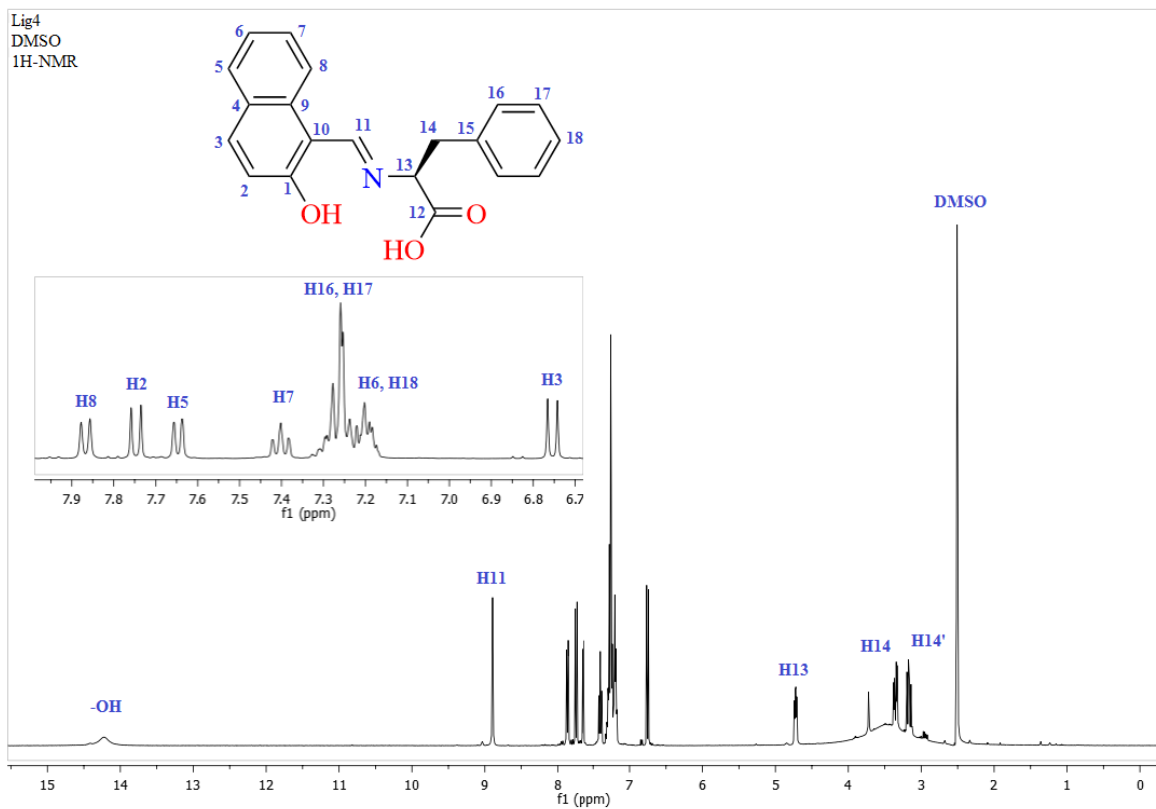


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H para el ligante **Lig4** en DMSO a 400MHz.

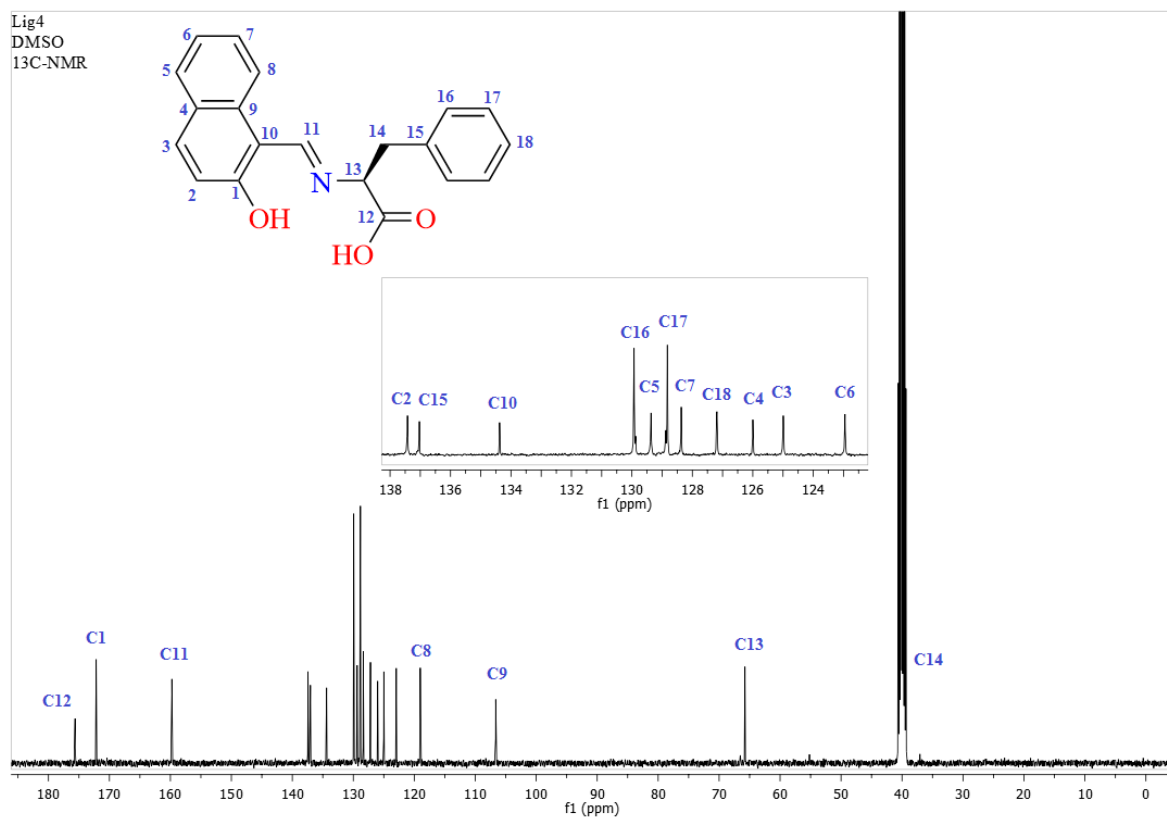


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C para el ligante **Lig4** en DMSO a 100MHz.

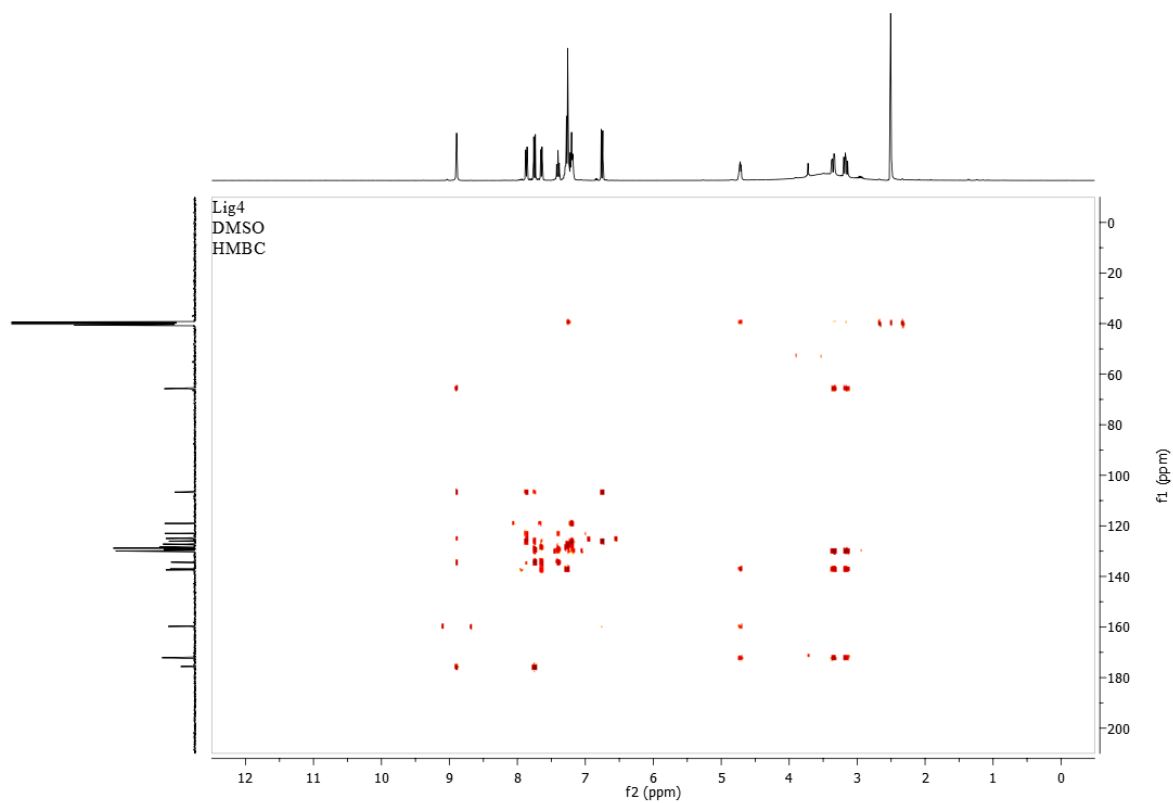


Figura 52. Espectro HMBC para el ligante **Lig4** en DMSO.

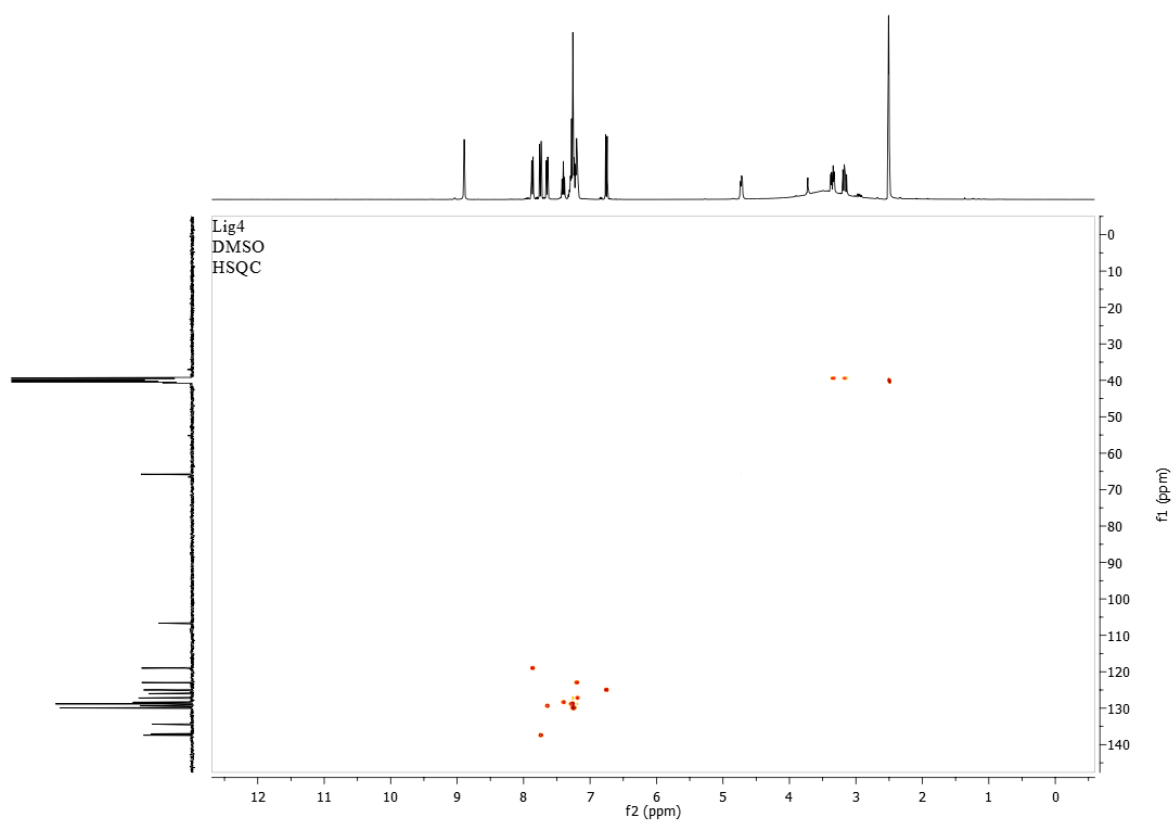


Figura 53. Espectro HSQC para el ligante **Lig4** en DMSO.

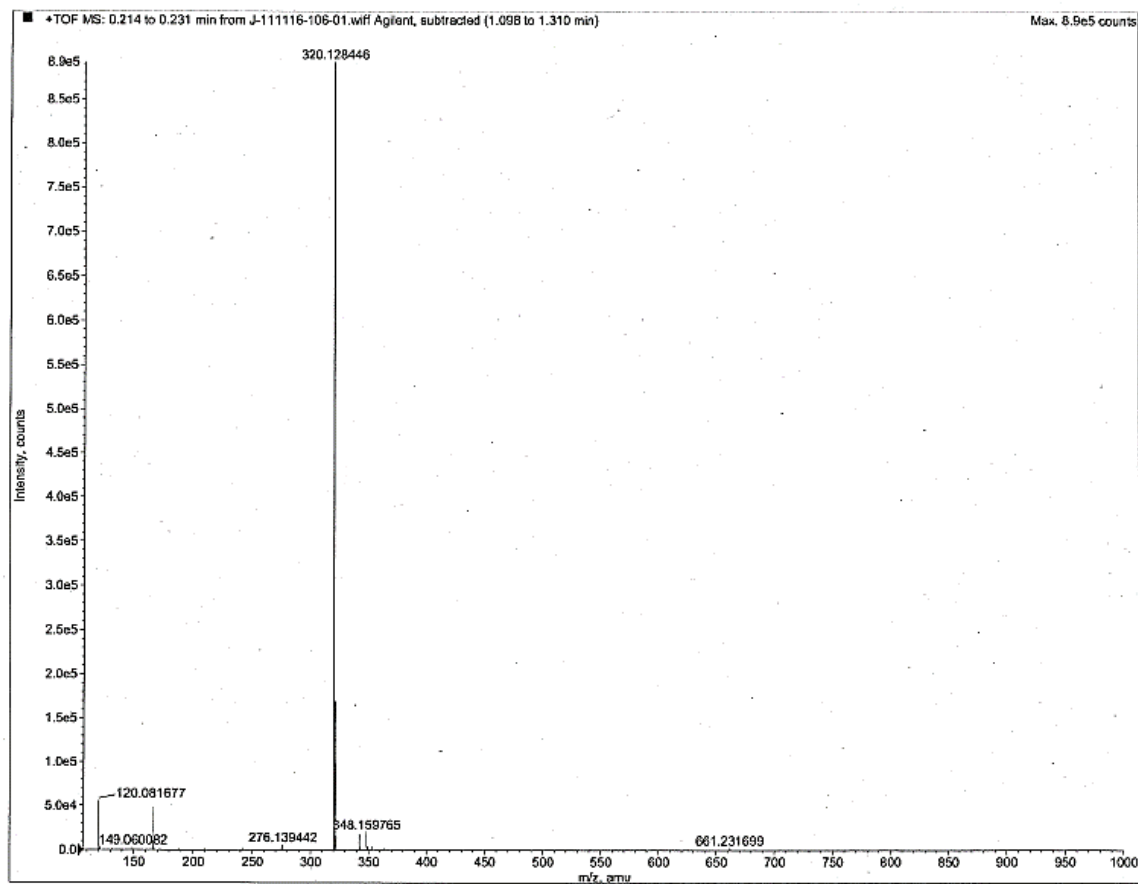


Figura 54. Espectro de masas para el ligante **Lig4** en DMSO.

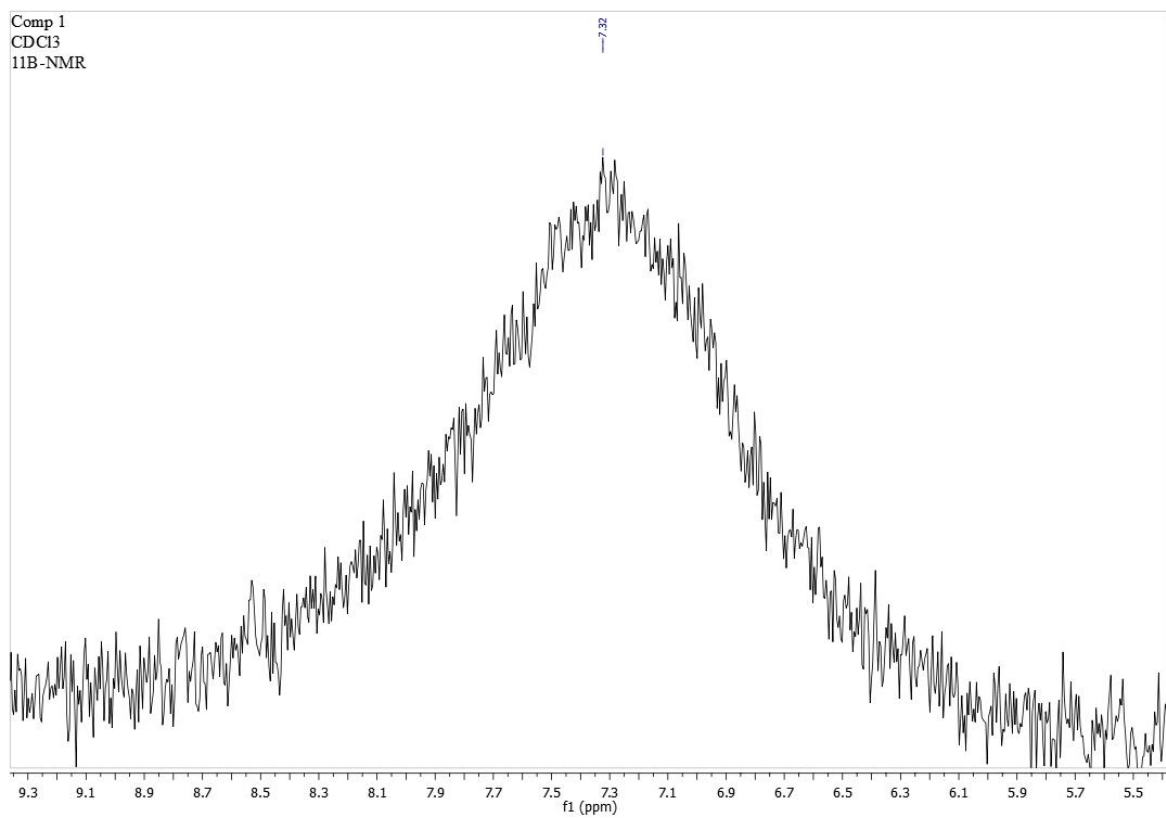


Figura 55. Espectro RMN de ^{11}B para el compuesto **1** en CDCl_3 a 128 MHz.

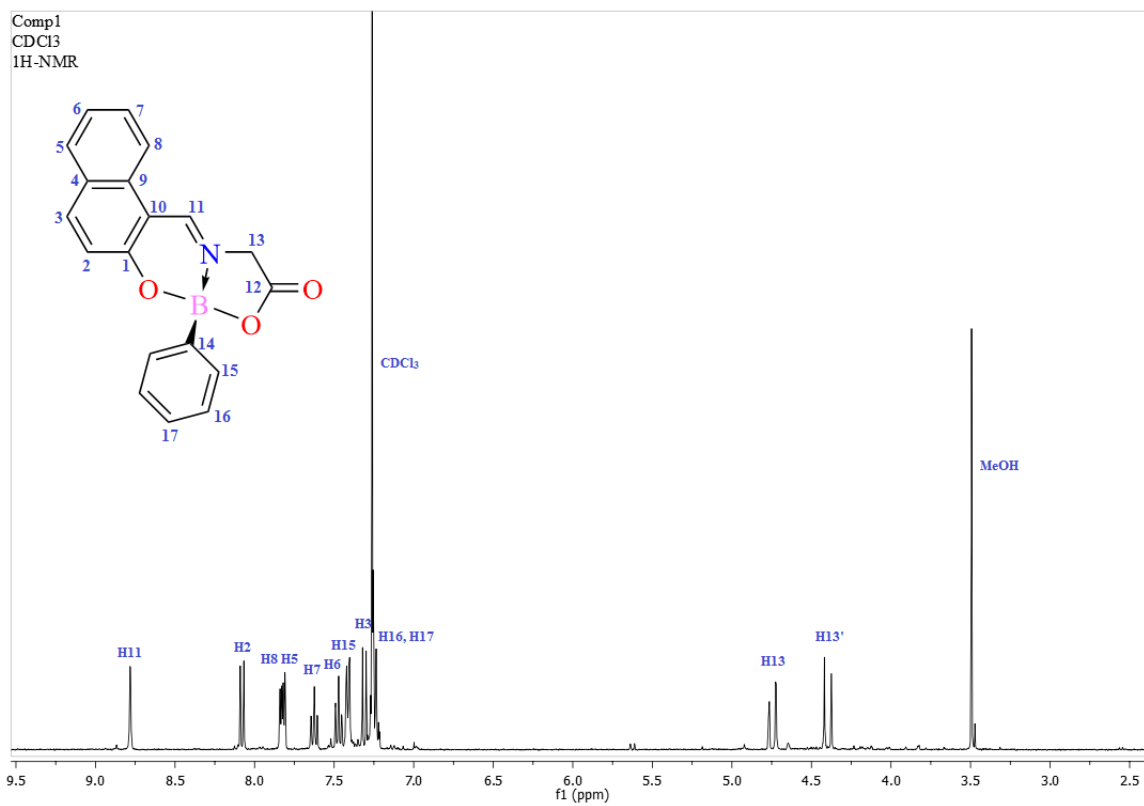


Figura 56. Espectro RMN de ^1H para el compuesto **1** en CDCl_3 a 400 MHz.

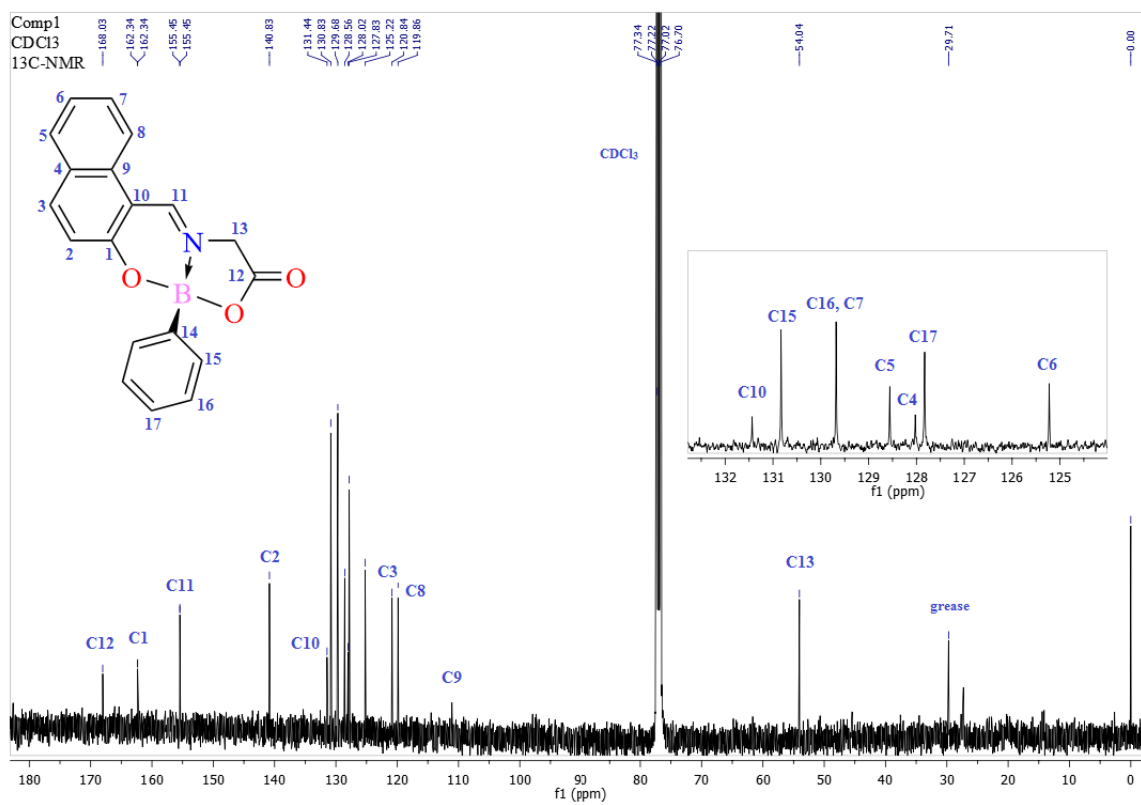


Figura 57. Espectro RMN de ^{13}C para el compuesto **1** en CDCl_3 a 100 MHz.

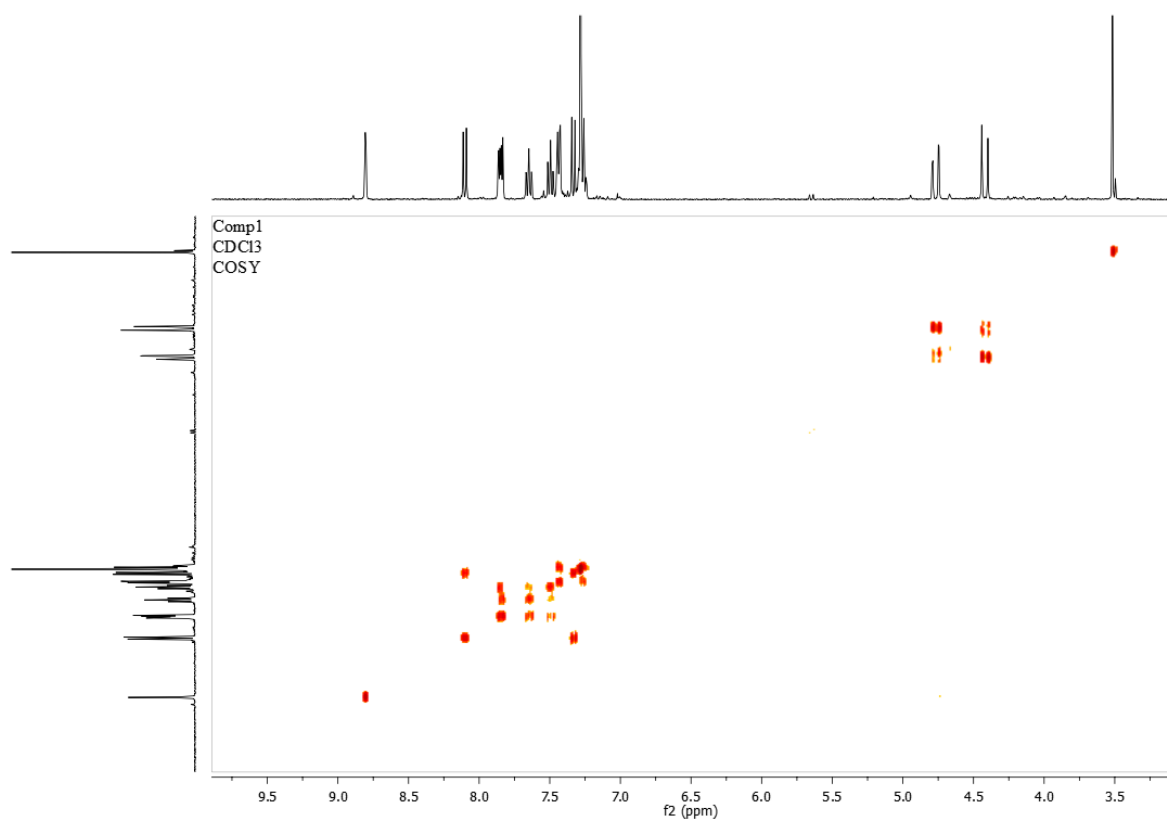


Figura 58. Espectro COSY para el compuesto **1** en CDCl_3 .

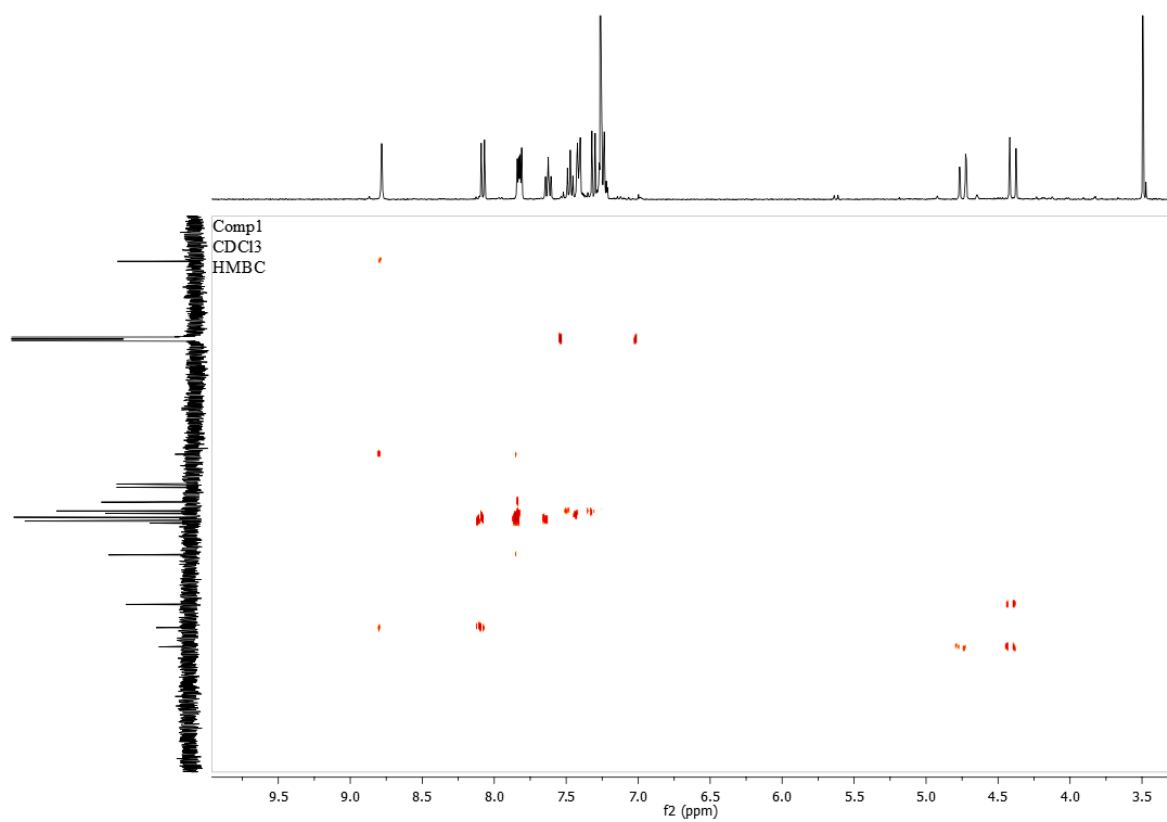


Figura 59. Espectro HMBC para el compuesto **1** en CDCl₃.

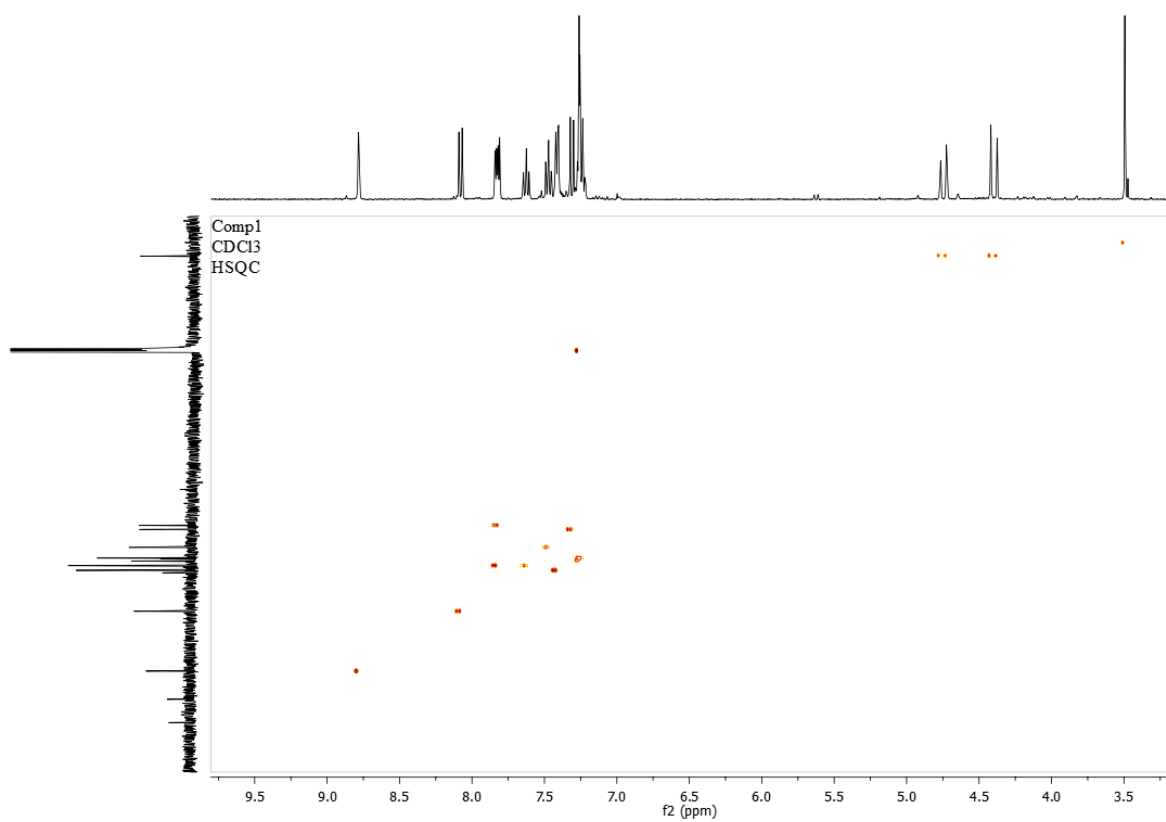


Figura 60. Espectro HSQC para el compuesto **1** en CDCl_3 .

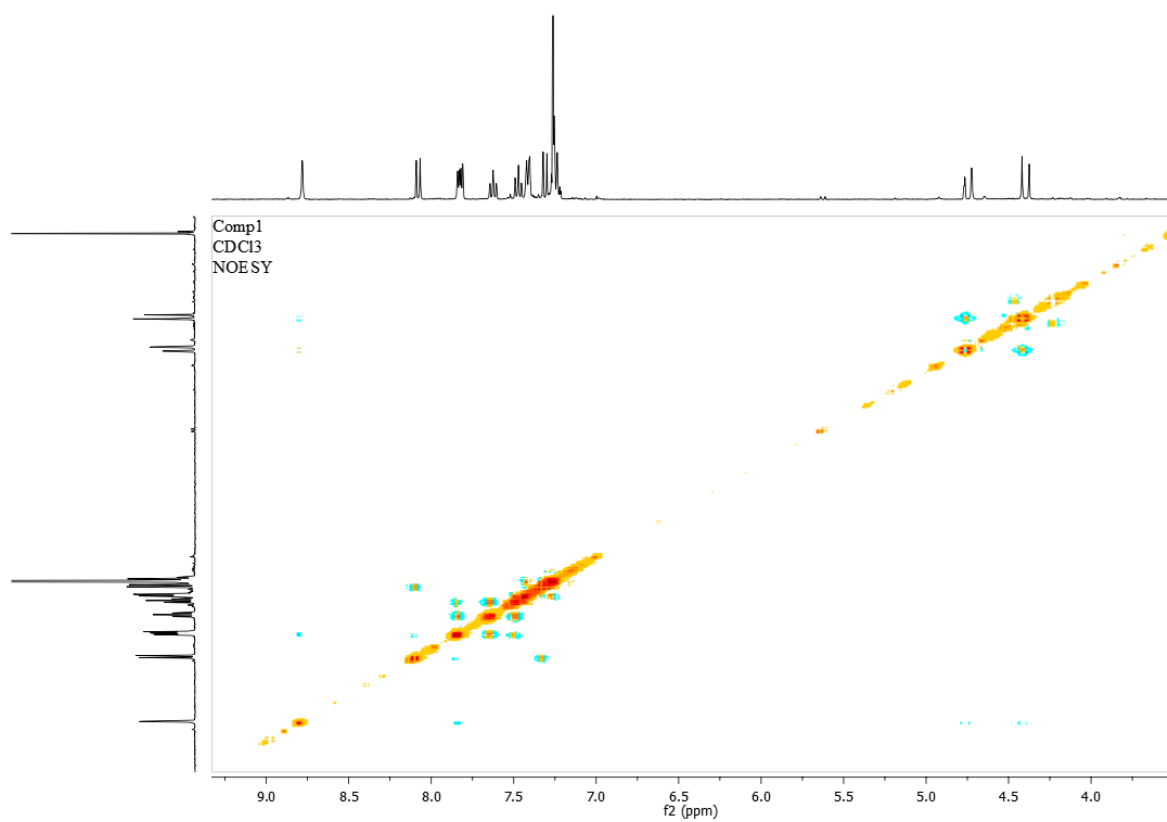


Figura 61. Espectro NOESY para el compuesto **1** en CDCl_3 .

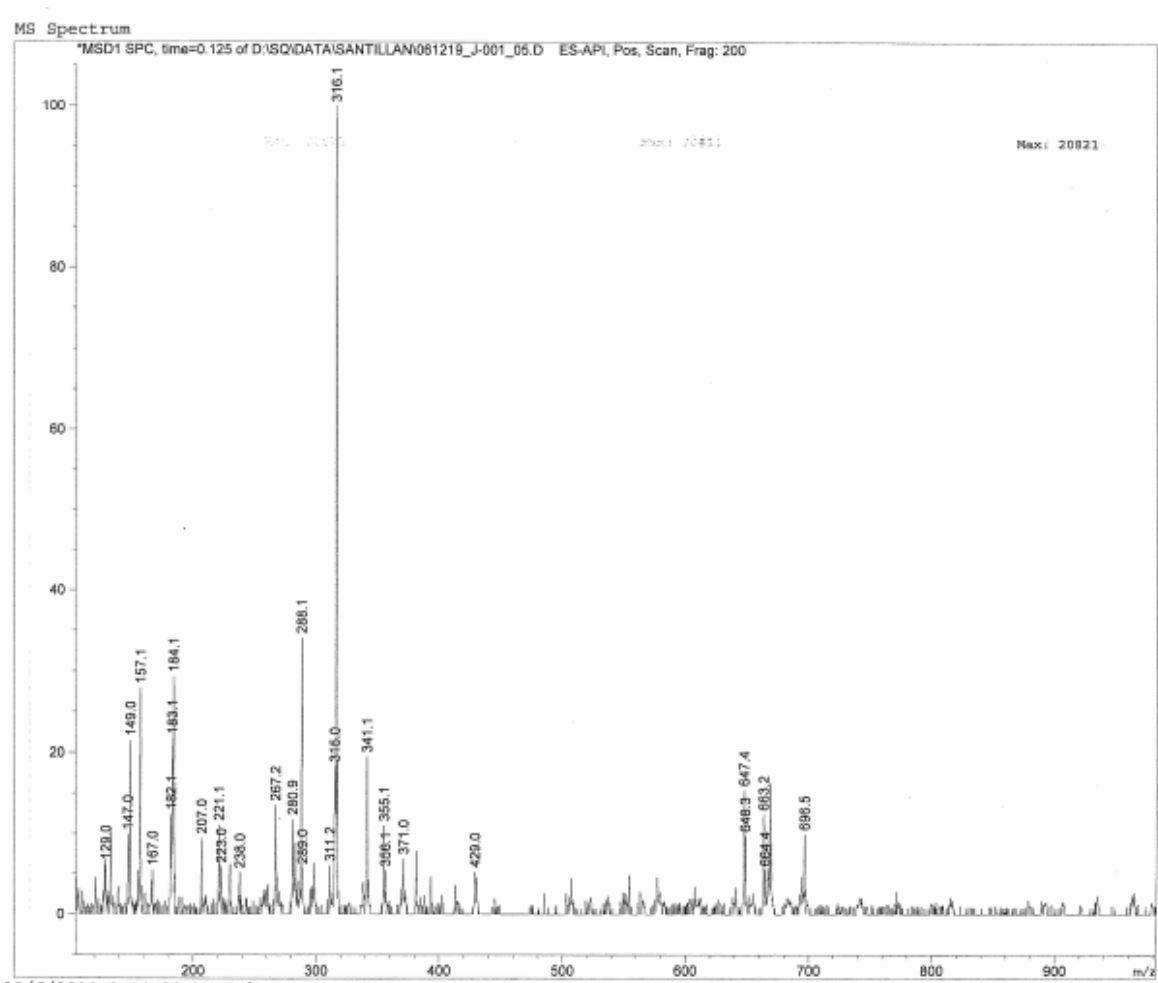


Figura 62. Espectro de masas para el compuesto 1.

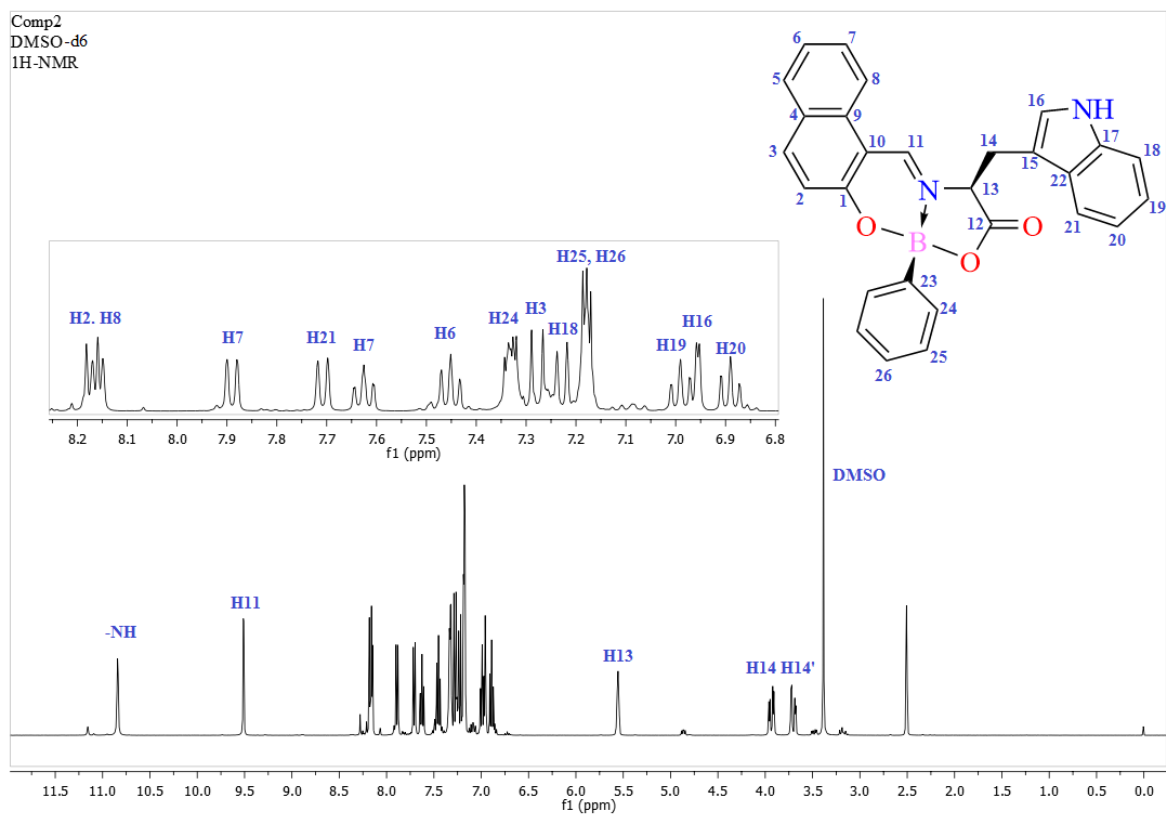


Figura 63. Espectro de RMN de ^1H para el compuesto **2** en DMSO a 400 MHz.

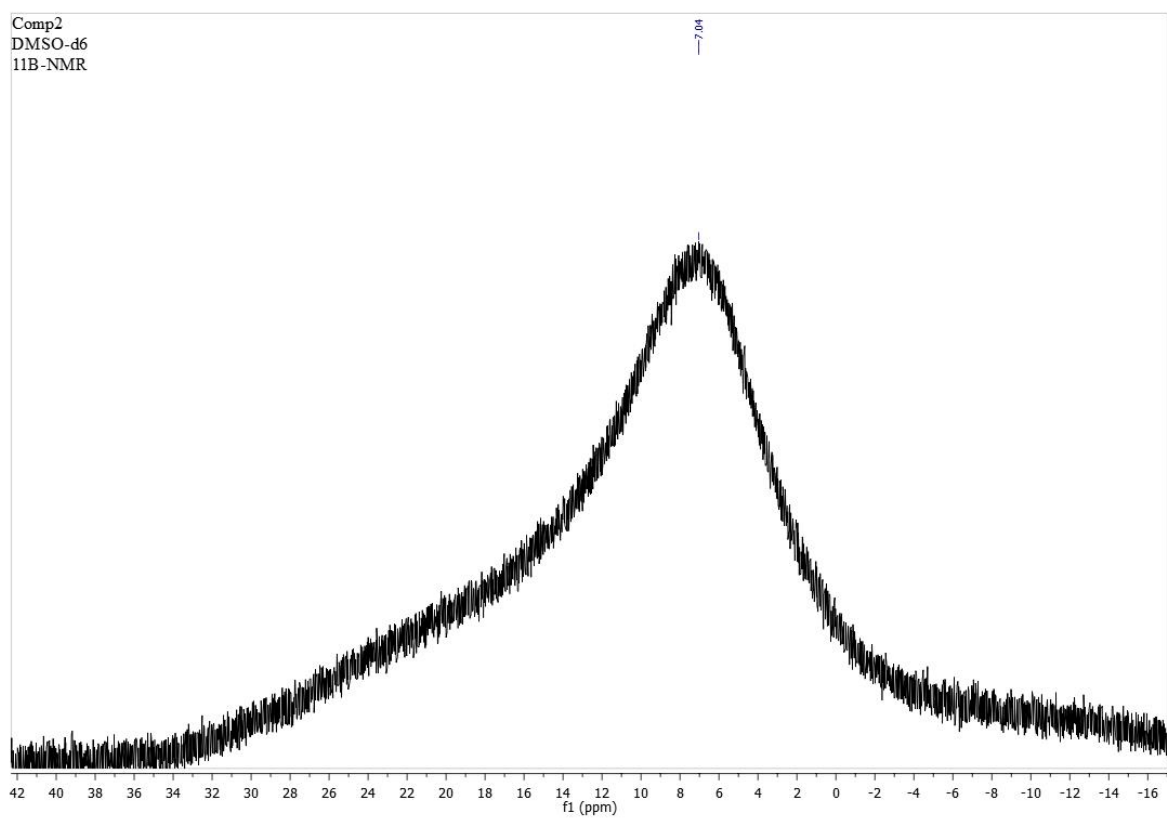


Figura 64. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **2** en DMSO a 128 MHz.

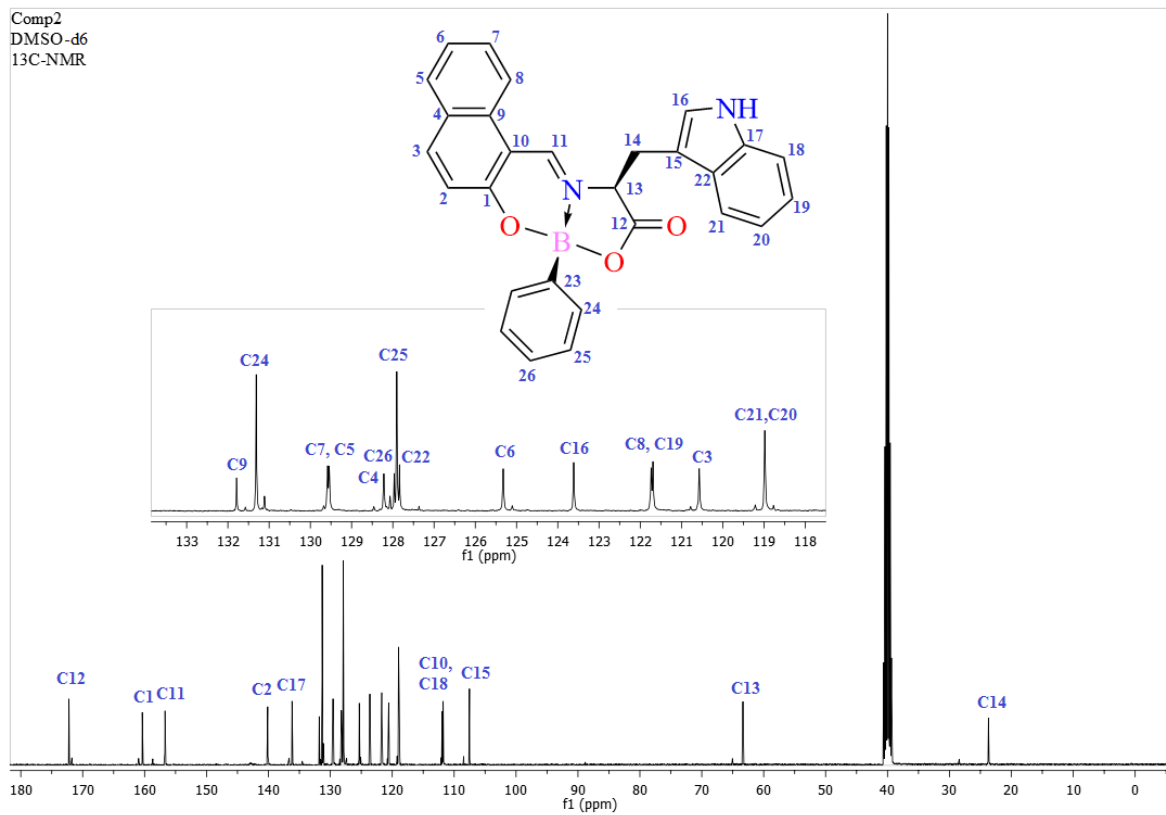


Figura 65. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **2** en DMSO a 100 MHz.

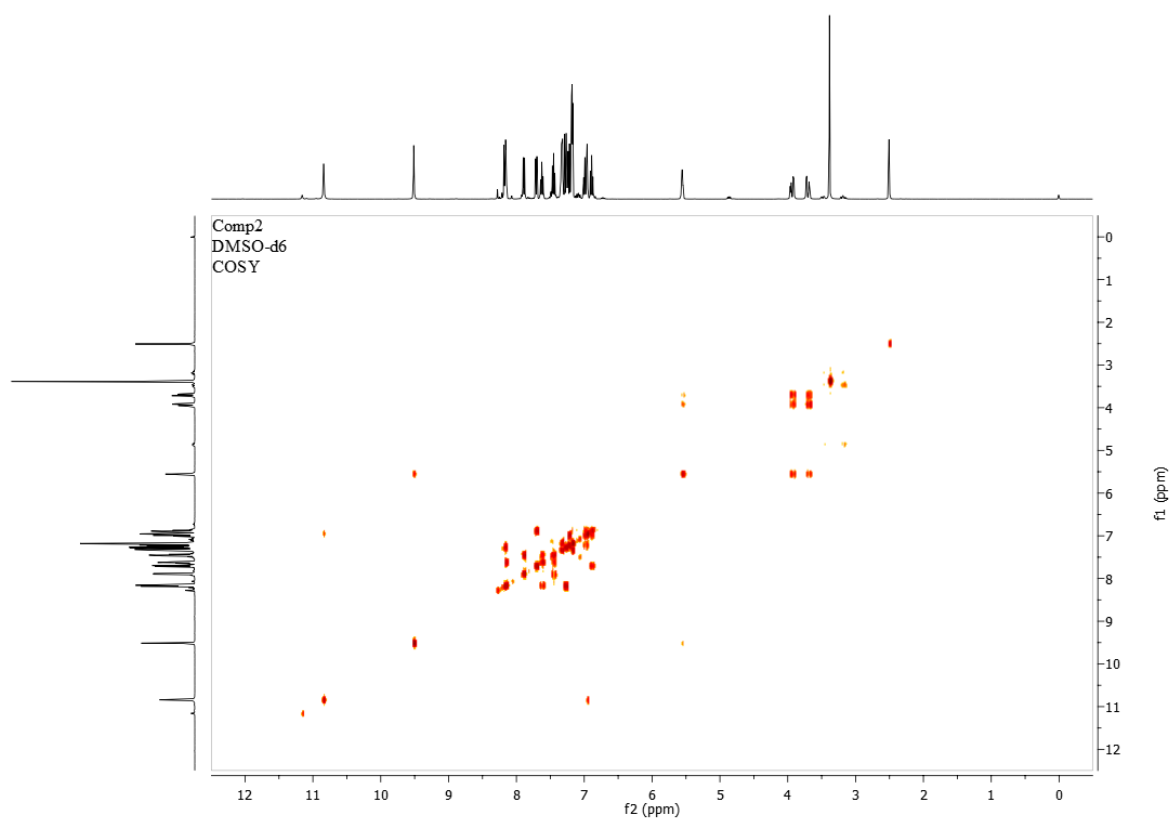


Figura 66. Espectro COSY para el compuesto **2**.

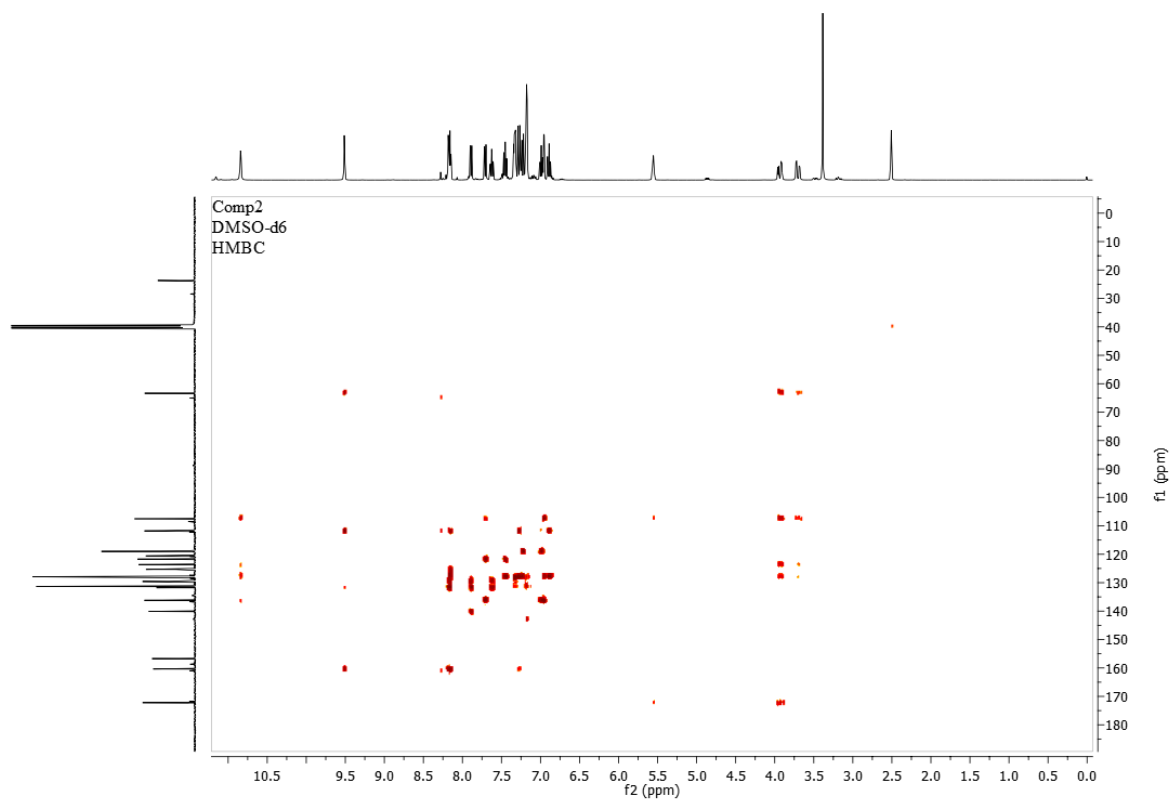


Figura 67. Espectro HMBC para el compuesto **2**.

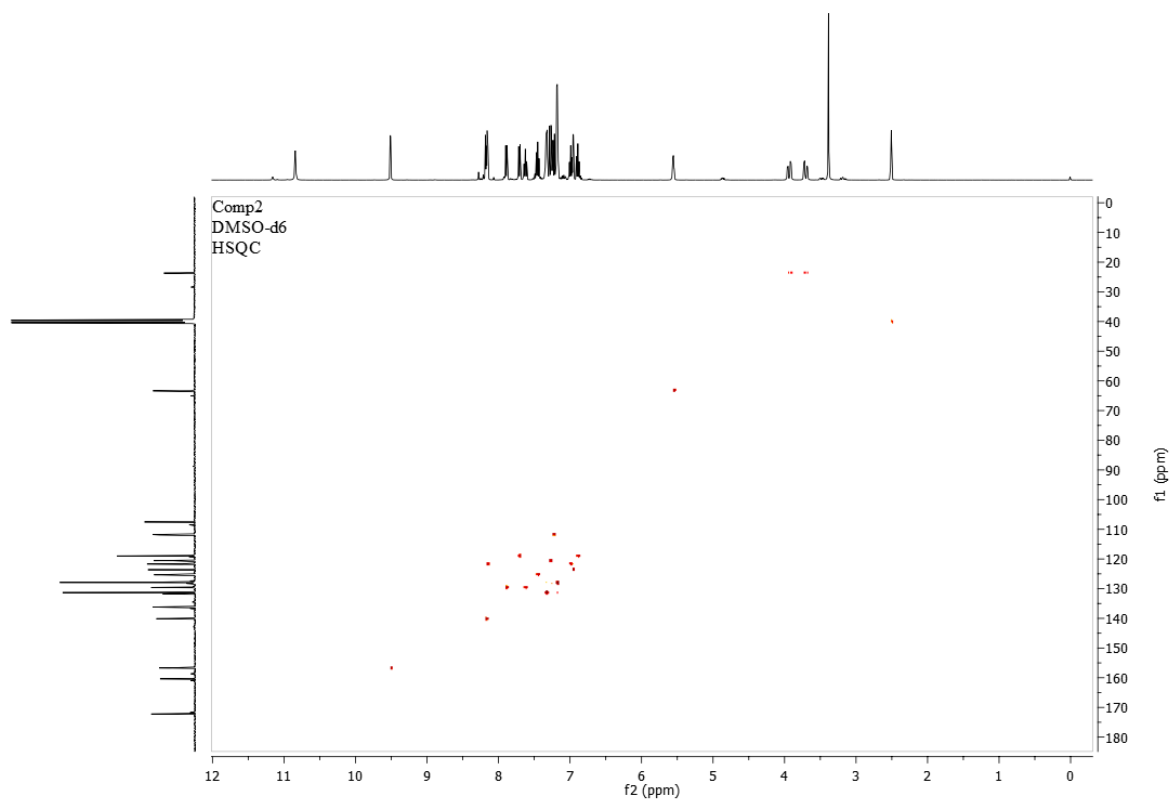


Figura 68. Espectro HSQC para el compuesto **2**.

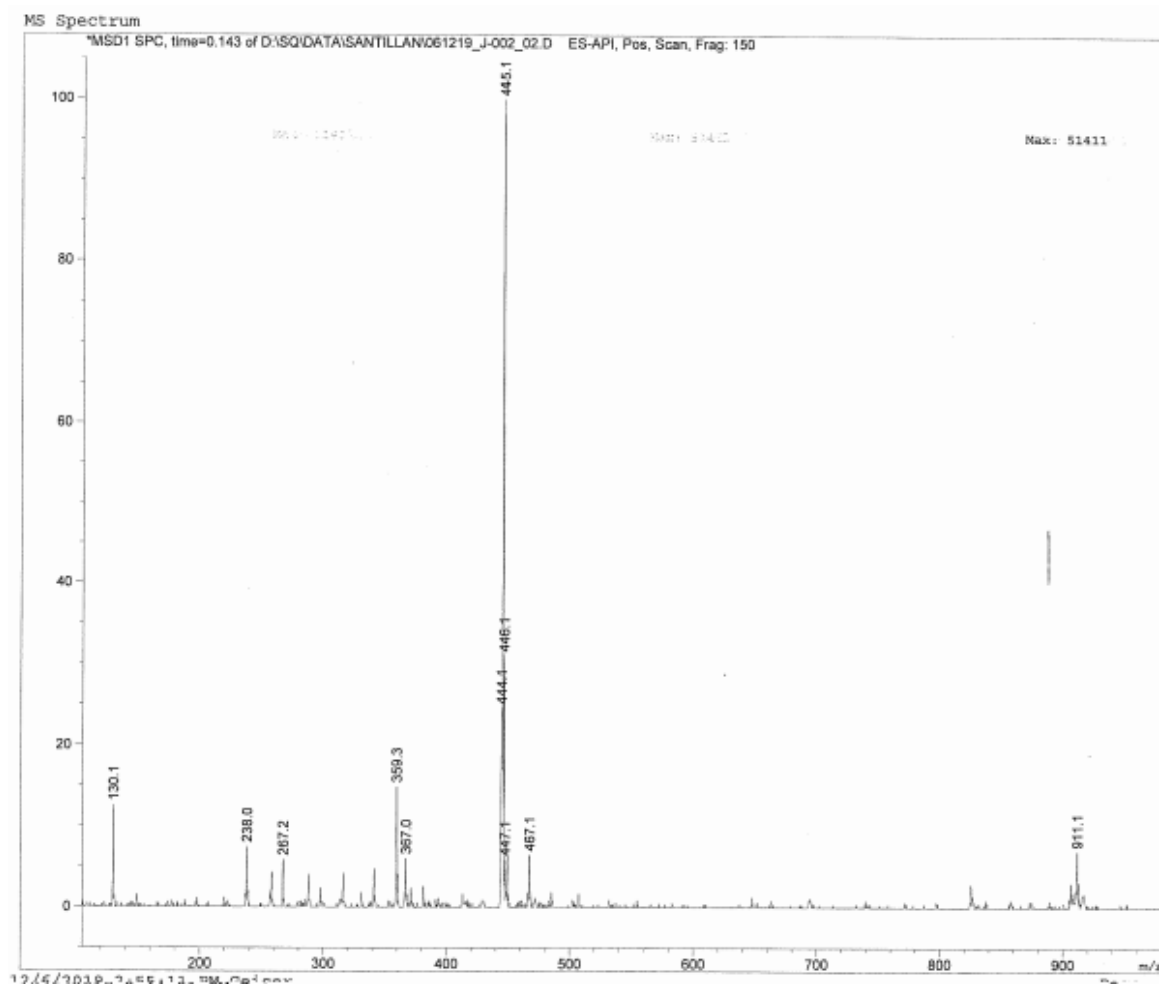


Figura 69. Espectro de masas para el compuesto 2.

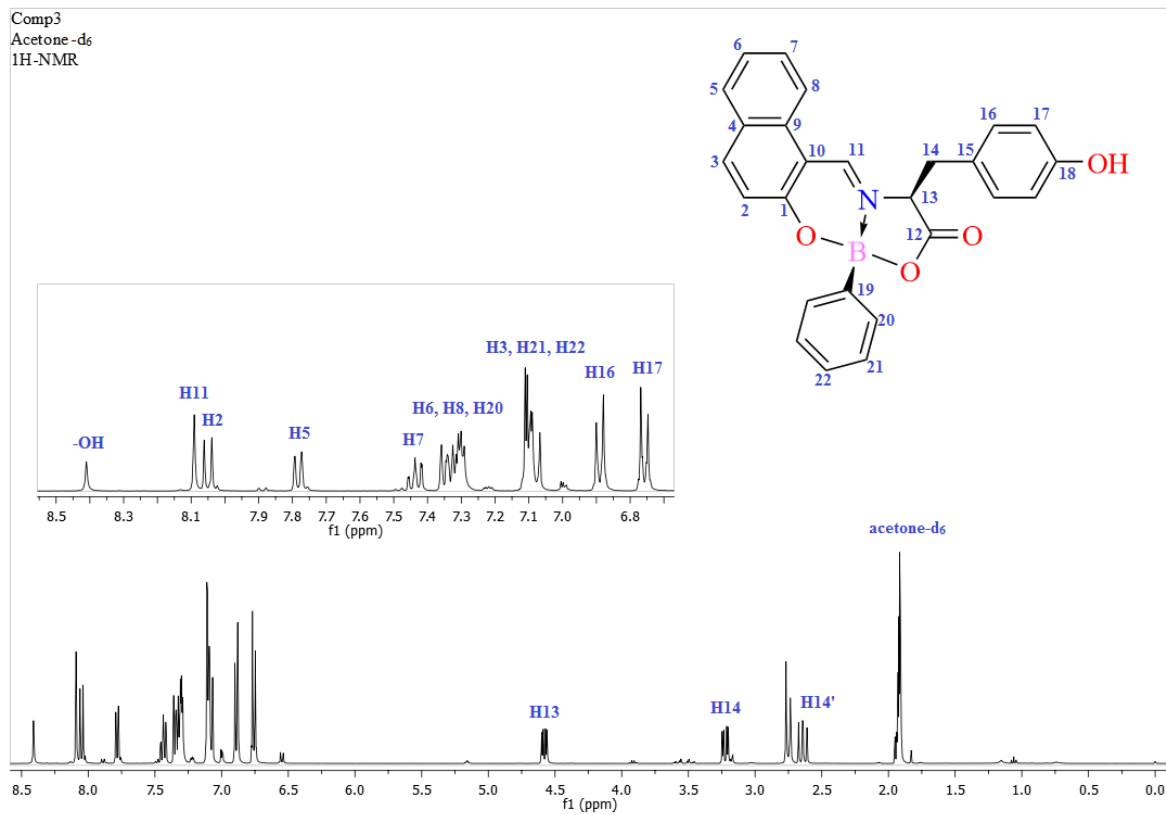


Figura 70. Espectro de RMN de ¹H para el compuesto **3** en acetona-d₆ a 400 MHz.

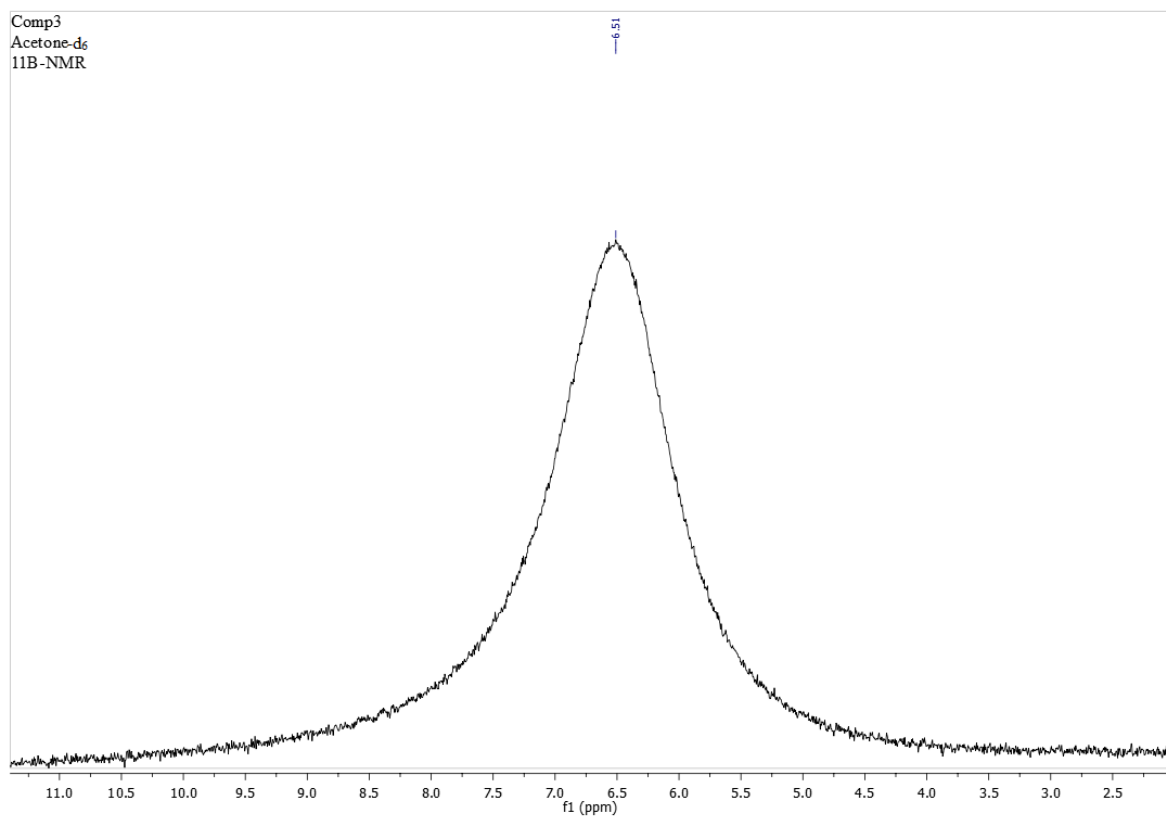


Figura 71. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **3** en acetona- d_6 a 128 MHz.

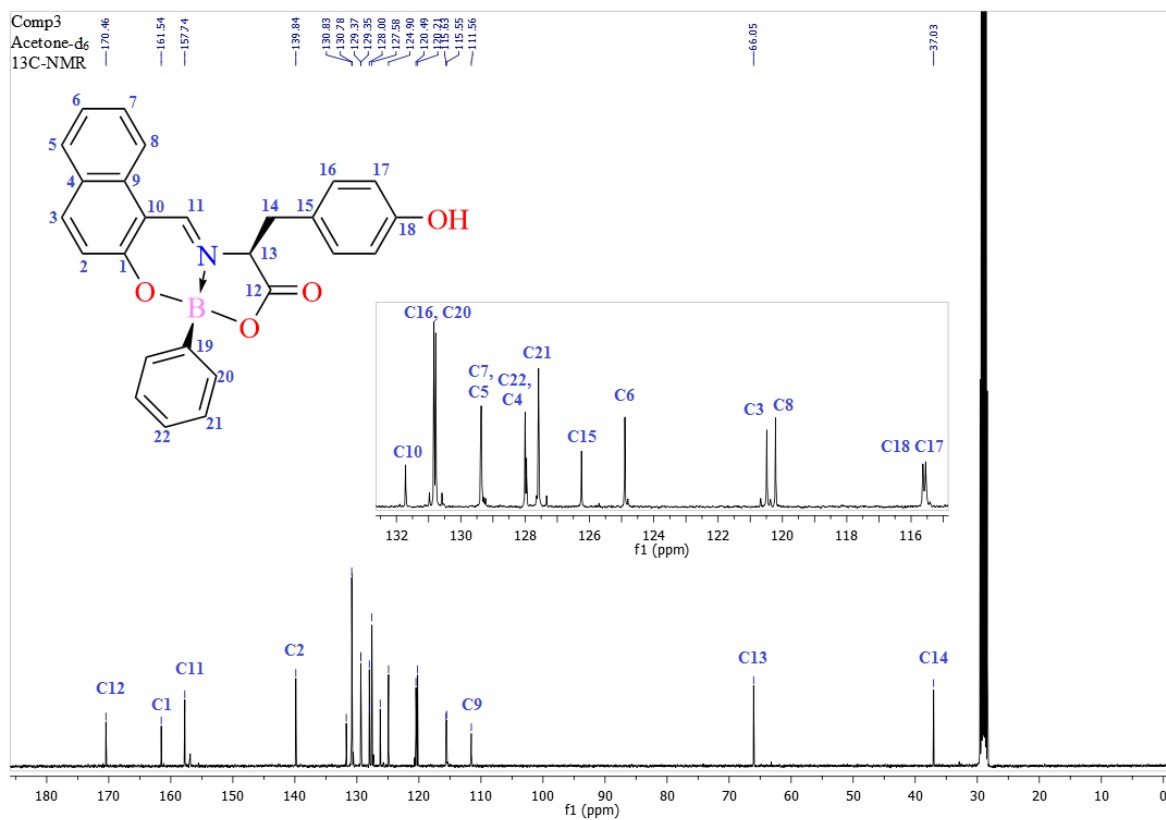


Figura 72. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **3** en acetona-d₆ a 100 MHz.

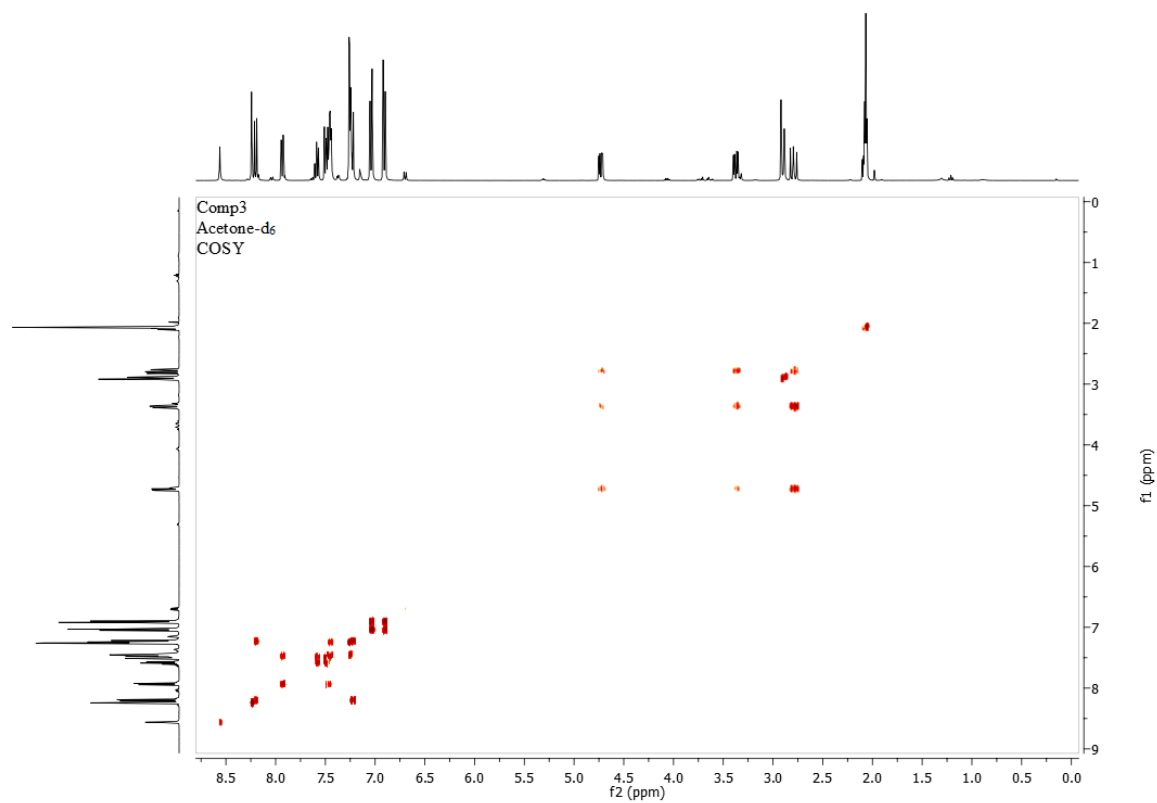


Figura 73. Espectro COSY para el compuesto **3** en acetona-d₆.

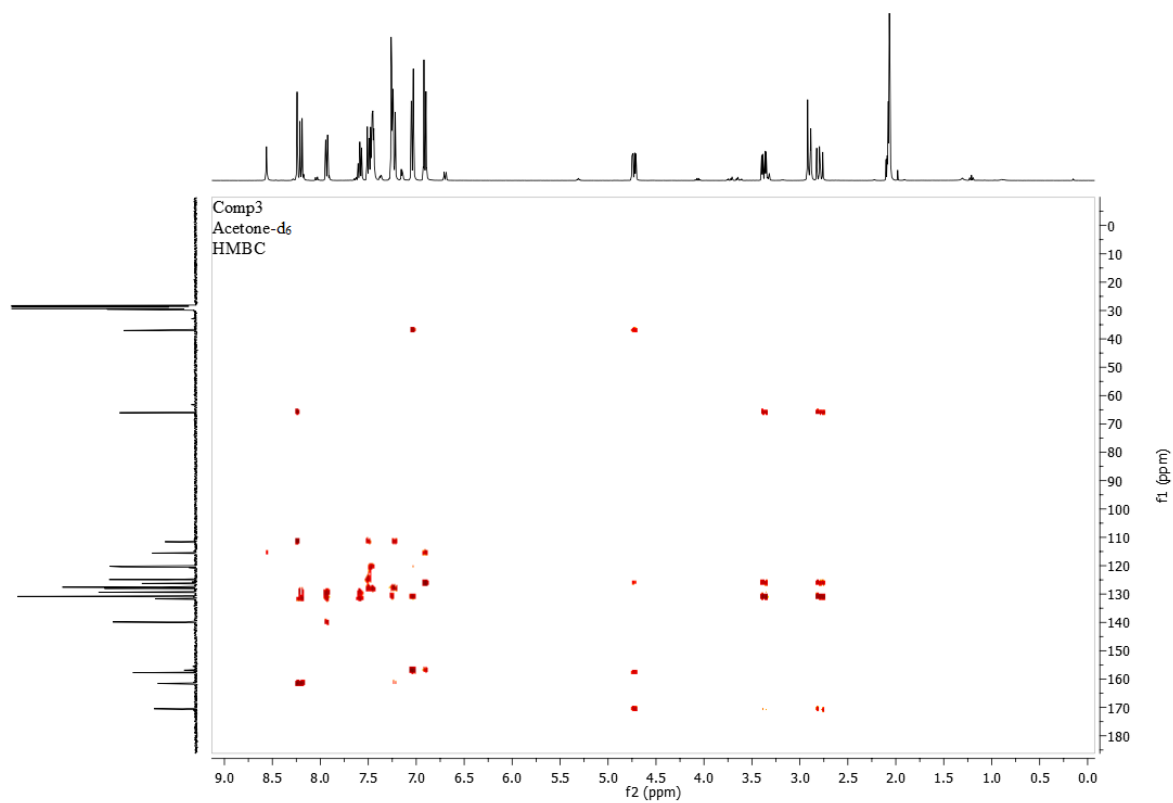


Figura 74. Espectro HMBC para el compuesto **3** en acetona-d₆.

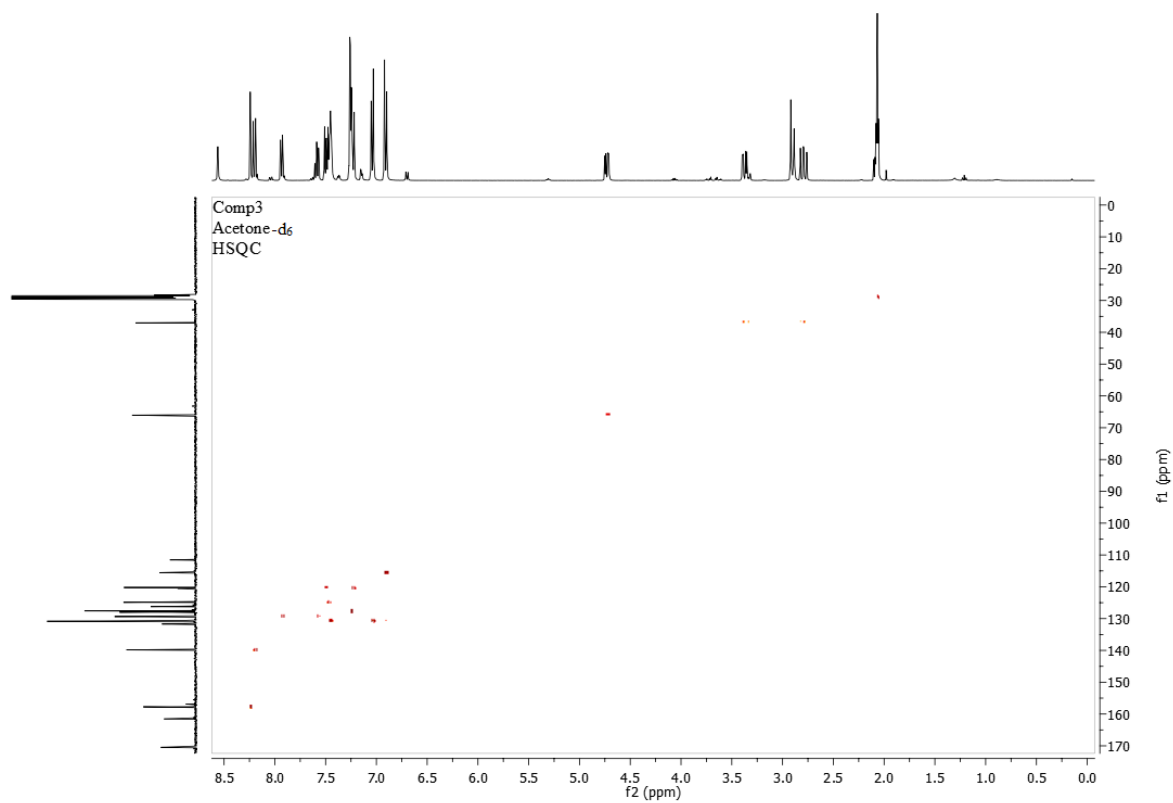


Figura 75. Espectro HSQC para el compuesto **3** en acetona-d₆.

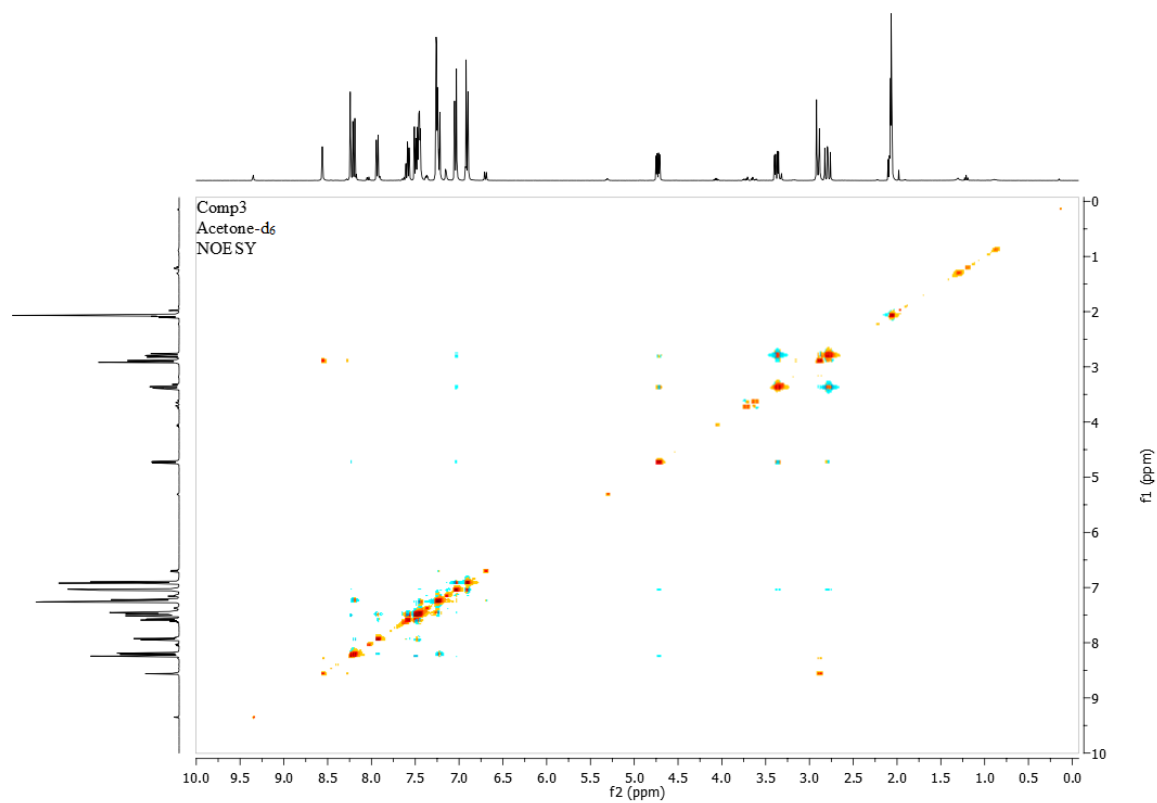


Figura 76. Espectro NOESY para el compuesto **3** en acetona-d₆.

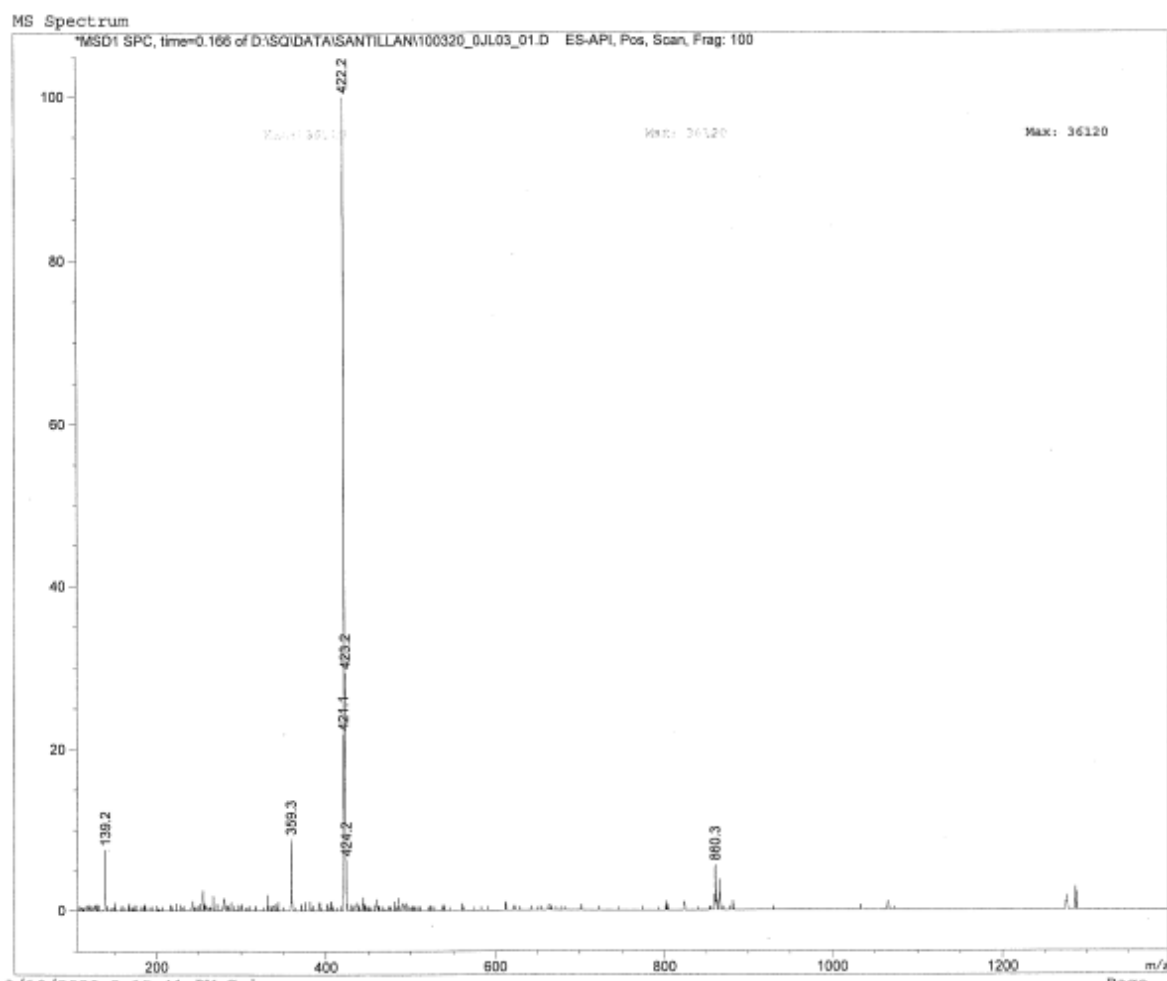


Figura 77. Espectro de masas para el compuesto **3**.

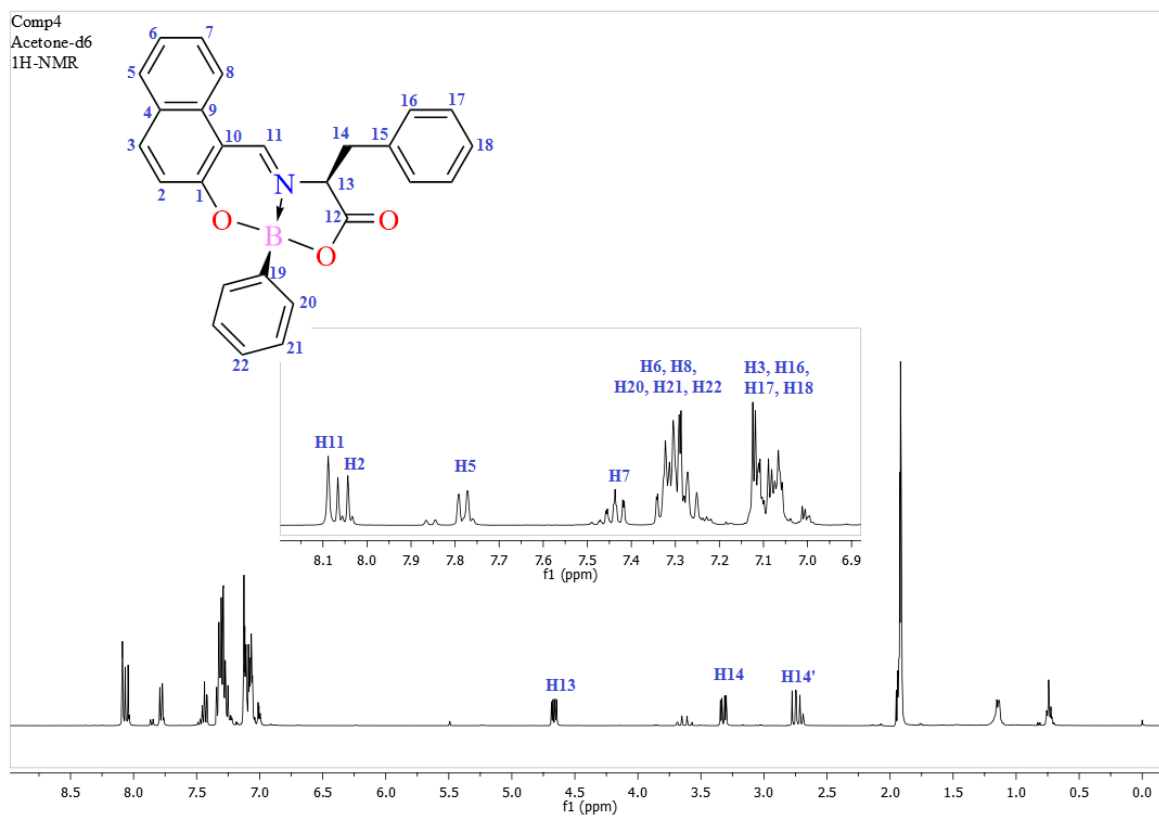


Figura 78. Espectro de RMN de ^1H para el compuesto **4** en acetona- d_6 a 400 MHz.

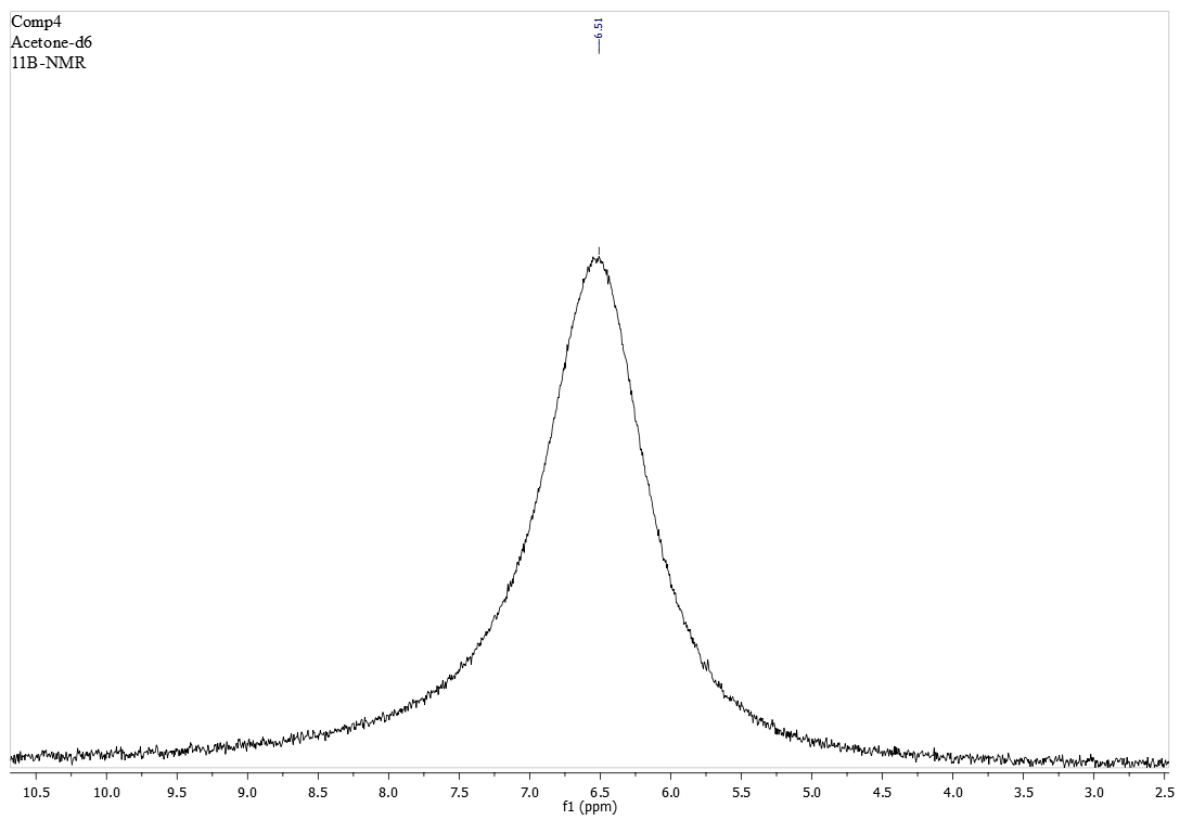


Figura 79. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **4** en acetona- d_6 a 128 MHz.

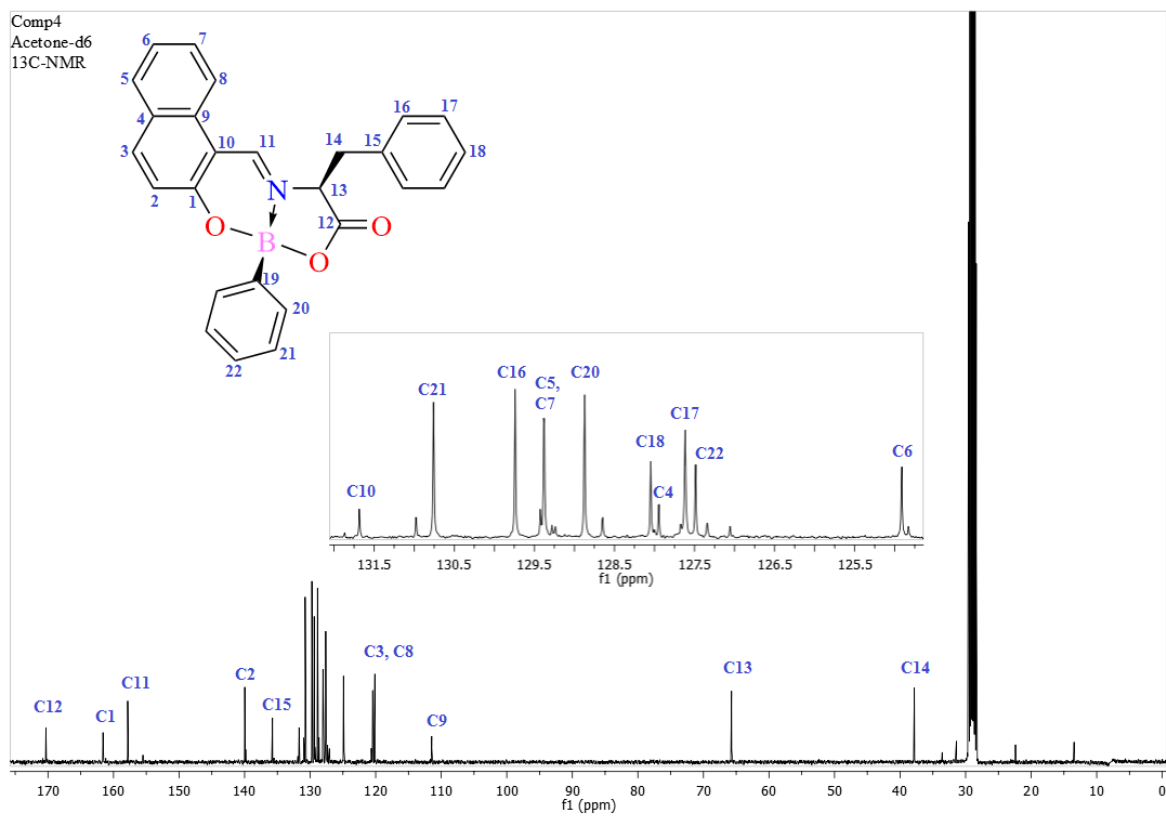


Figura 80. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **4** en acetona- d_6 a 100 MHz.

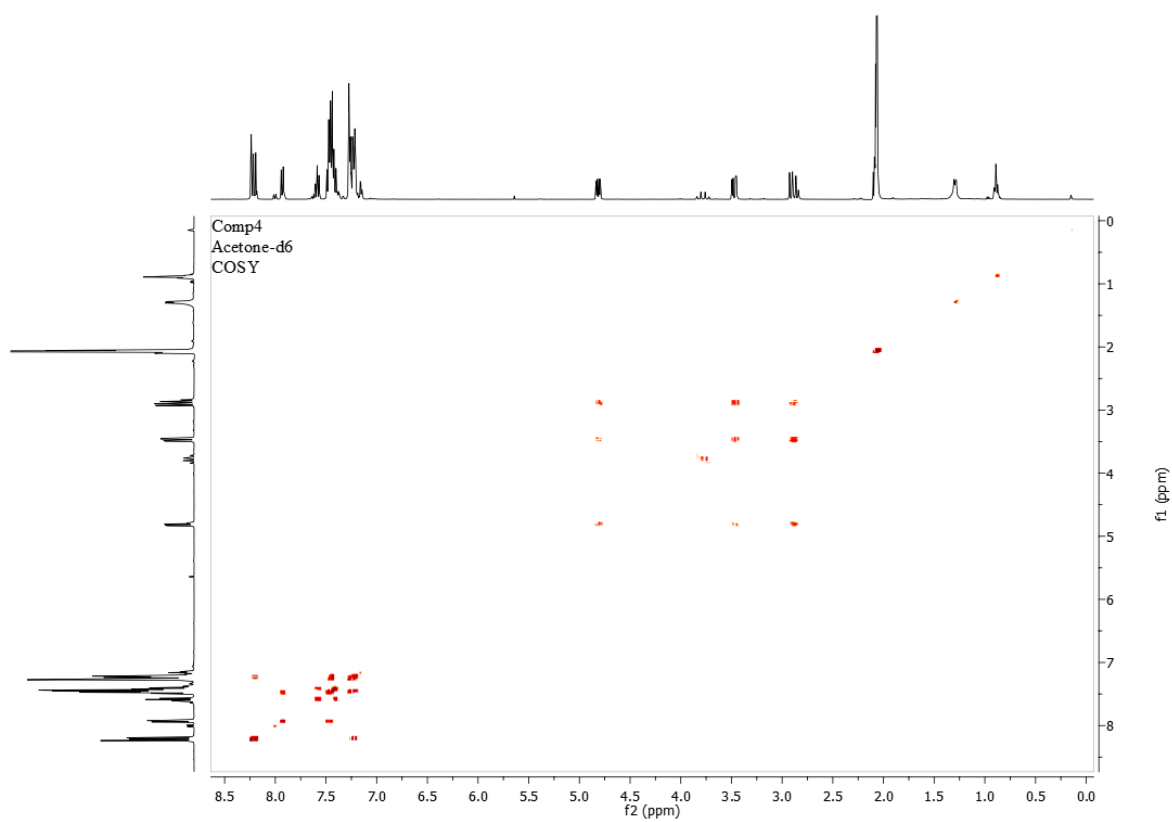


Figura 81. Espectro COSY para el compuesto **4** en acetona-d₆.

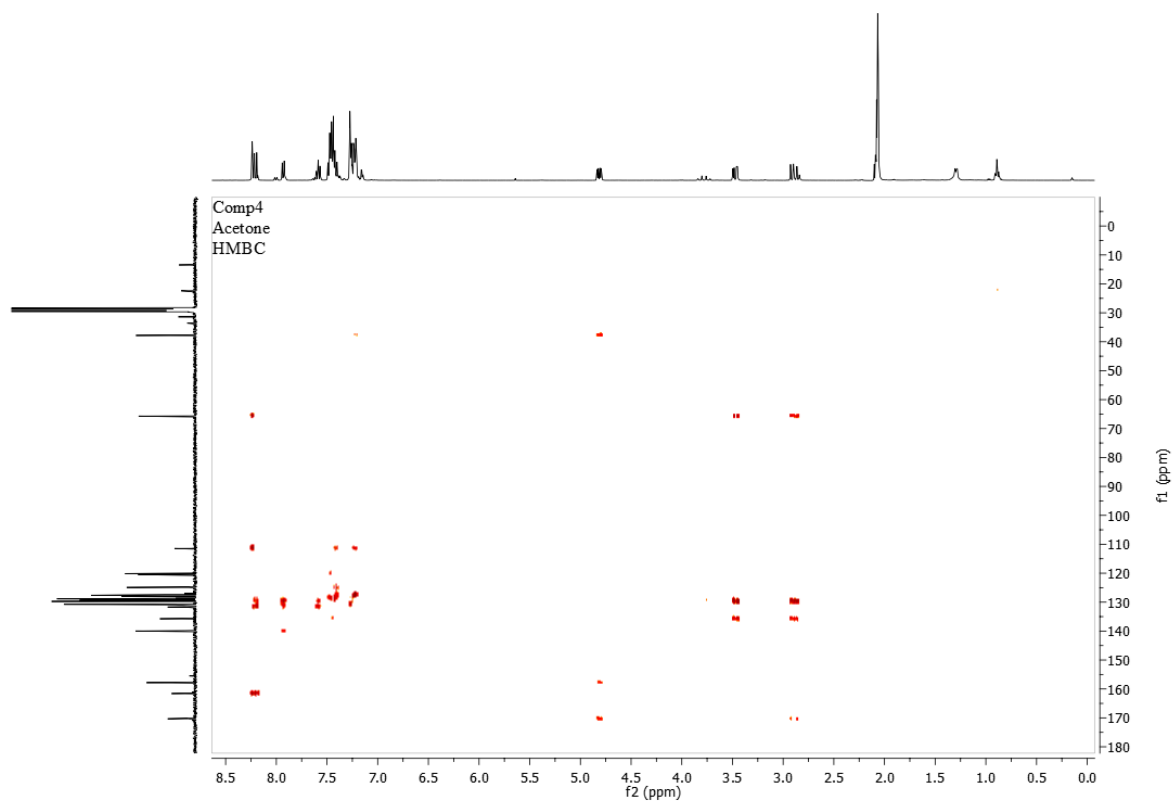


Figura 82. Espectro HMBC para el compuesto **4** en acetona-d₆.

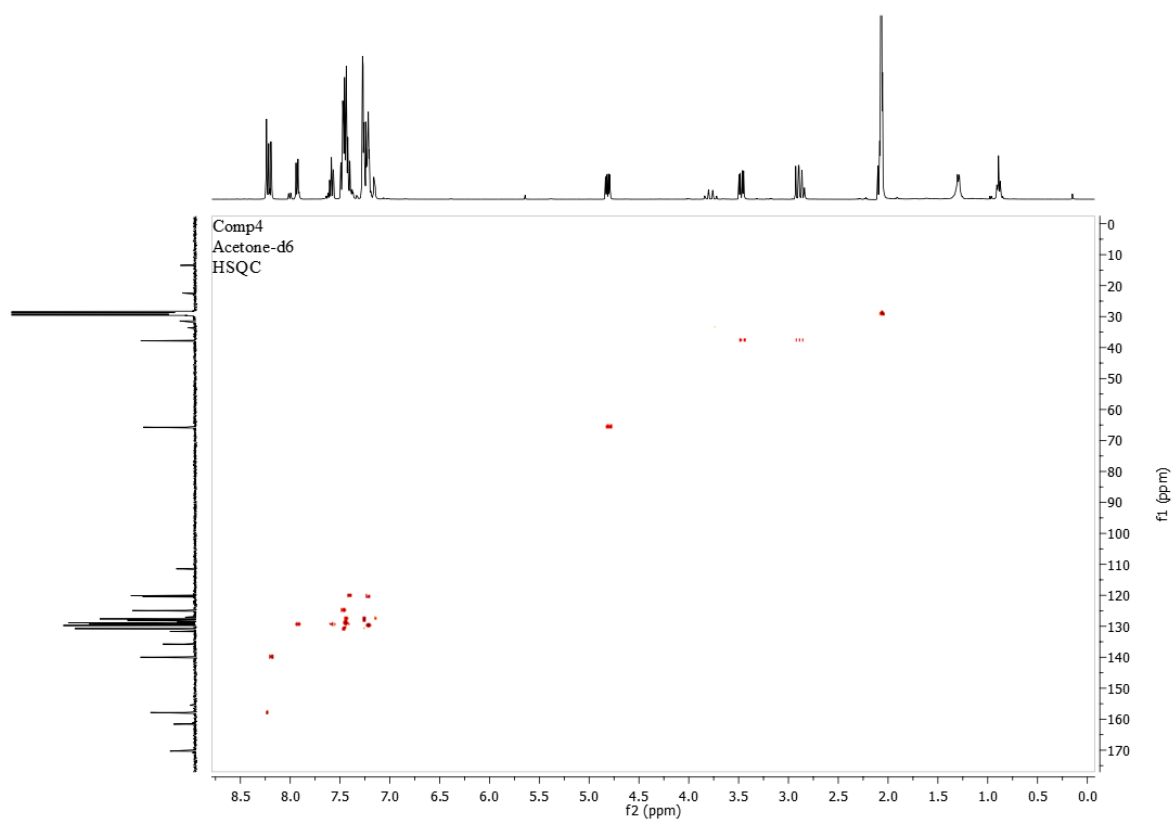


Figura 83. Espectro HSQC para el compuesto **4** en acetona-d₆.

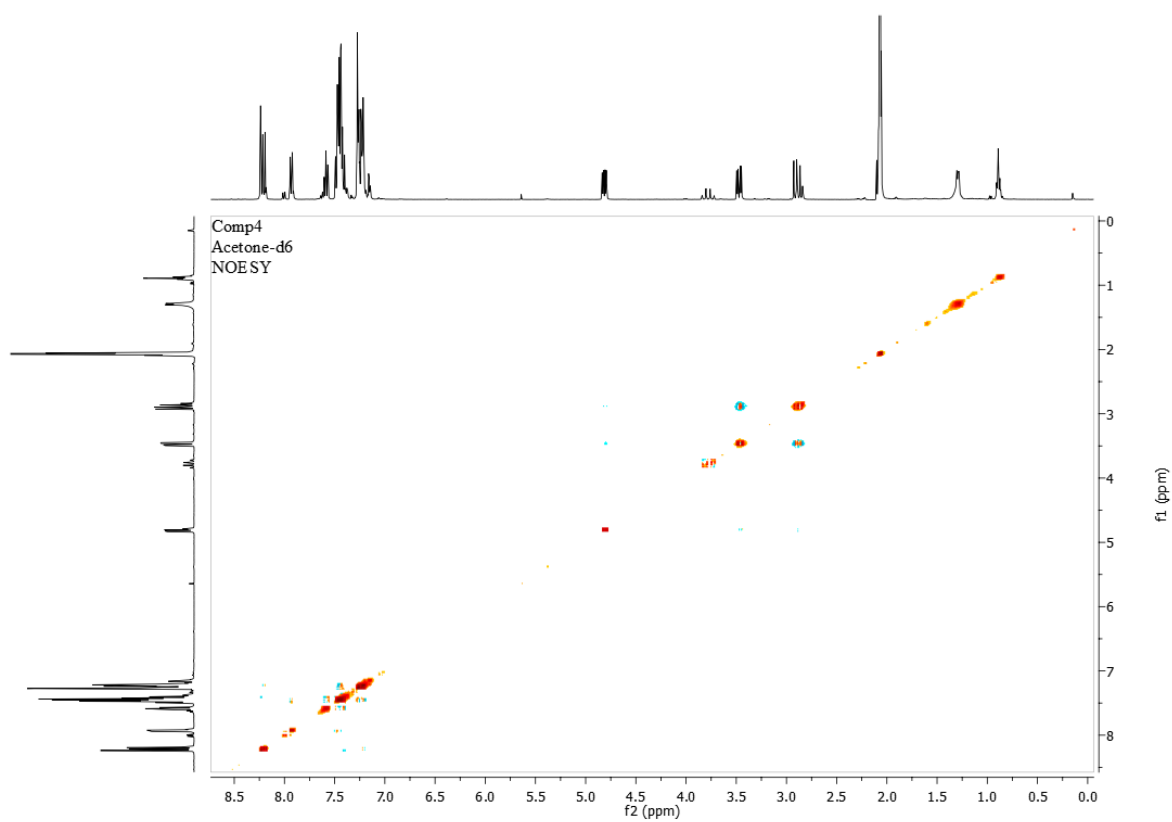


Figura 84. Espectro NOESY para el compuesto **4** en acetona-d₆.

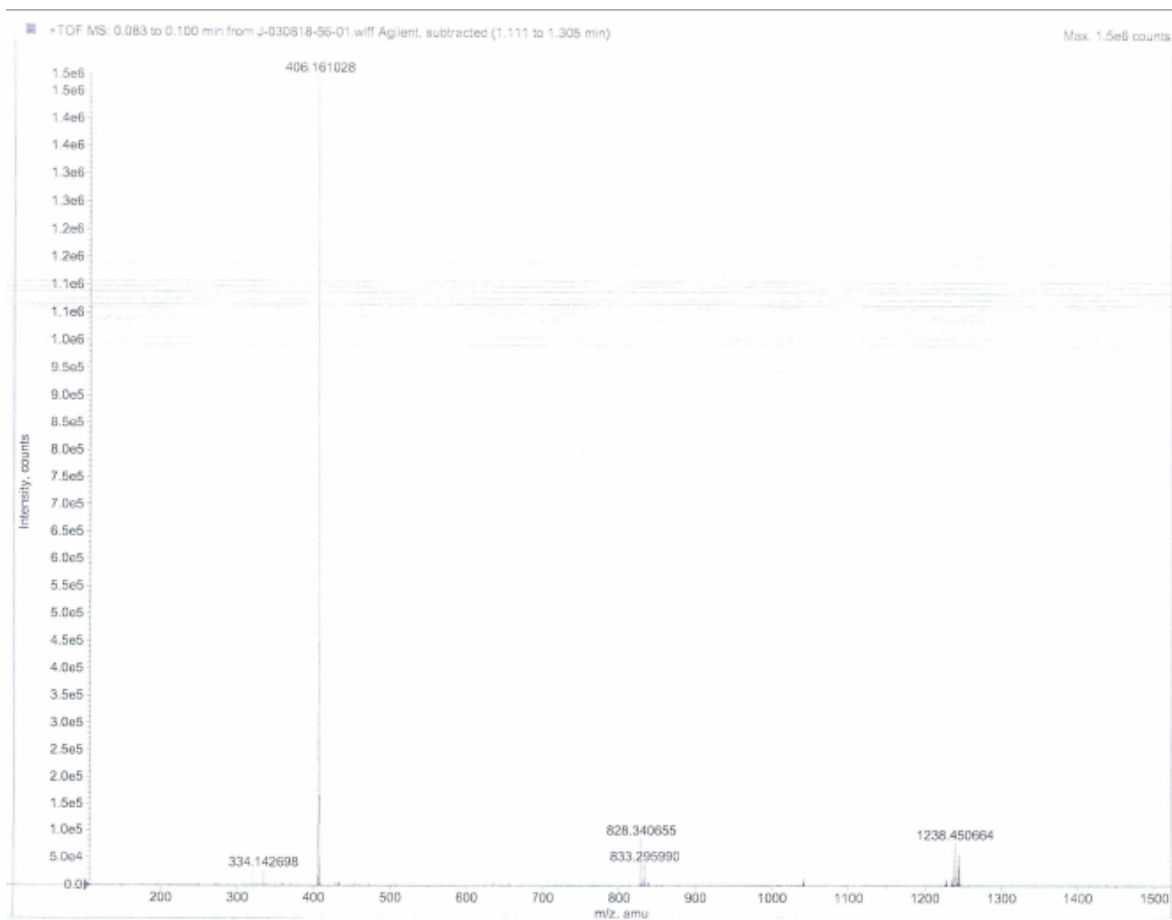


Figura 85. Espectro masas de alta resolución para el compuesto **4**.

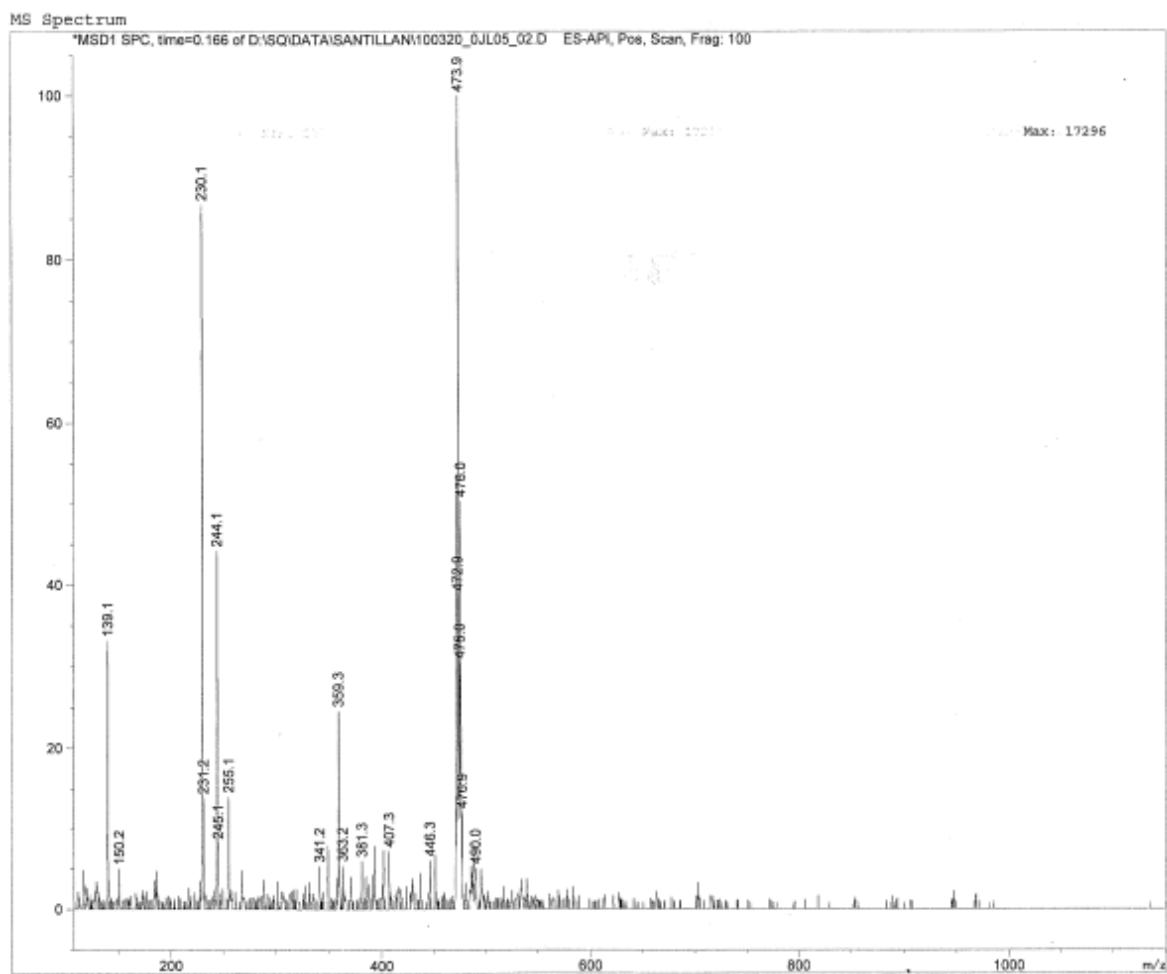


Figura 86. Espectro de masas para el compuesto **5**.

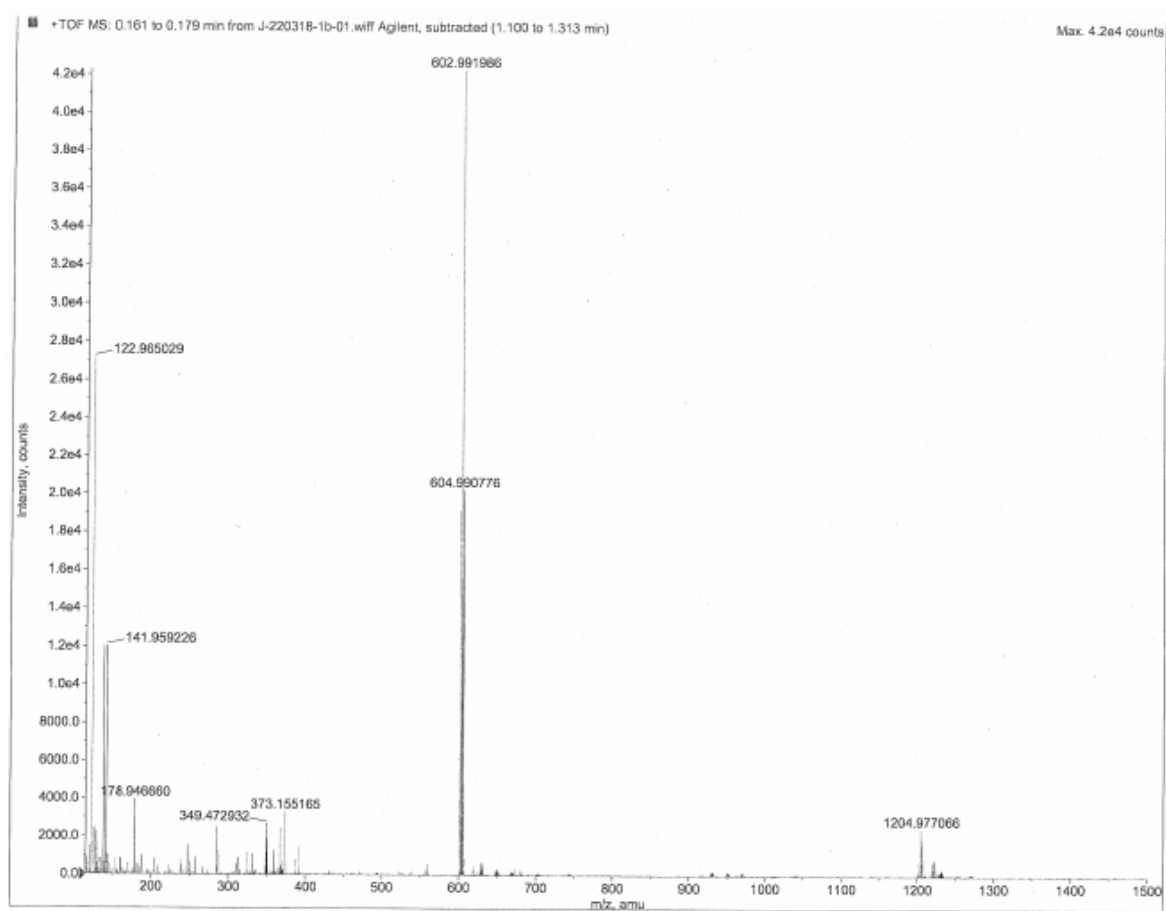


Figura 87. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto **6**.

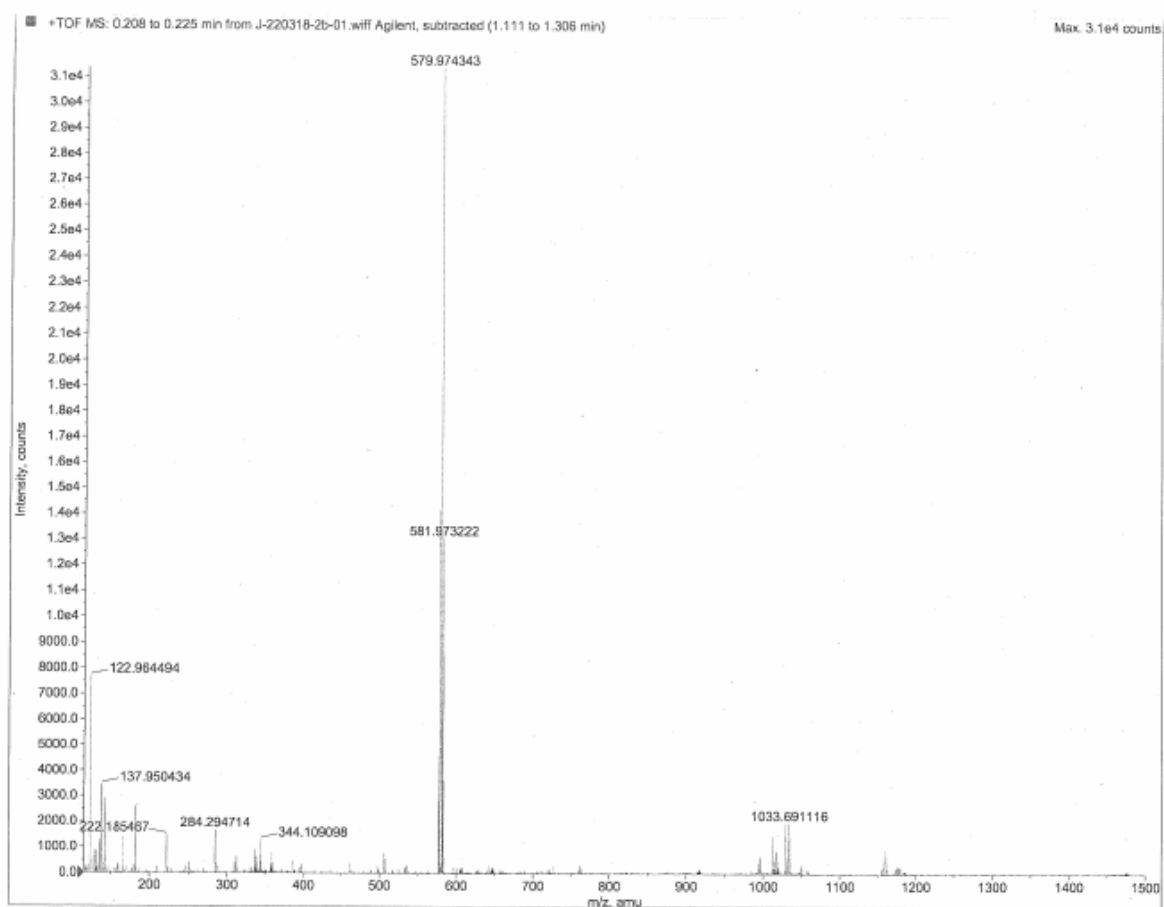


Figura 88. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto **7**.

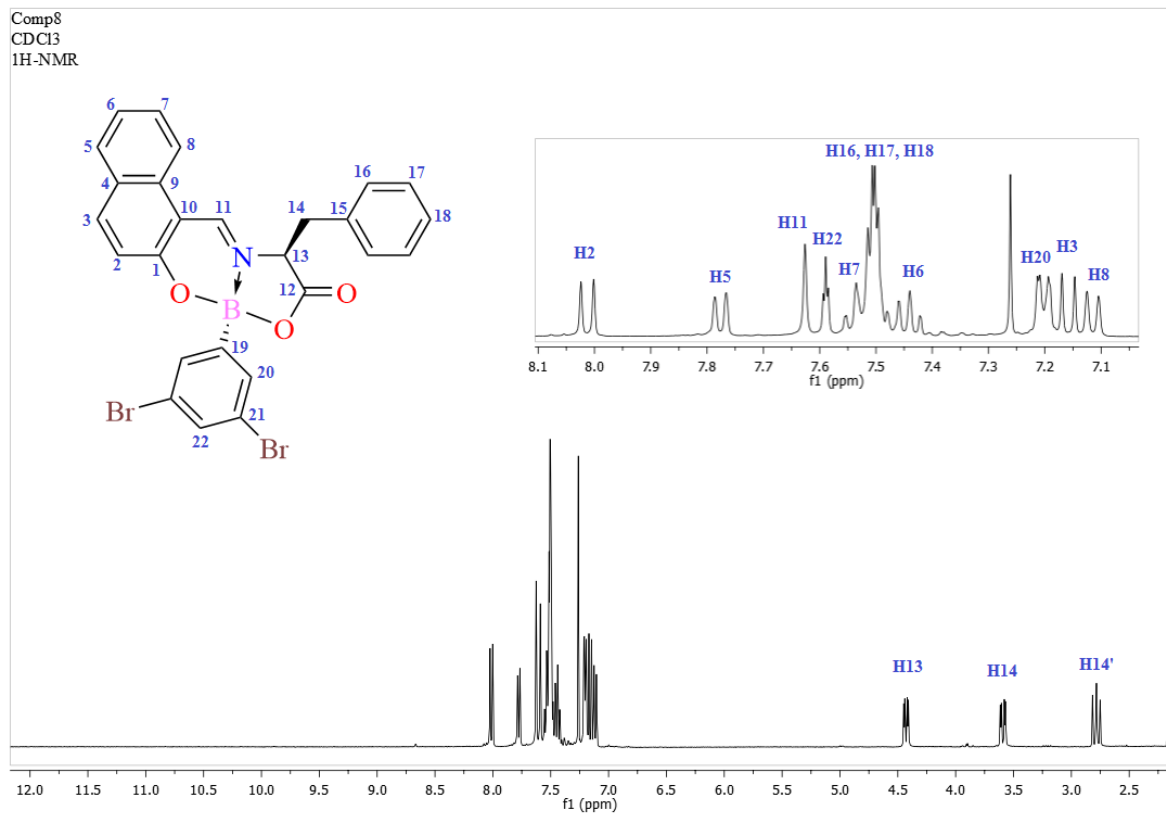


Figura 89. Espectro de RMN de ^1H para el compuesto **8** en CDCl_3 a 400 MHz.

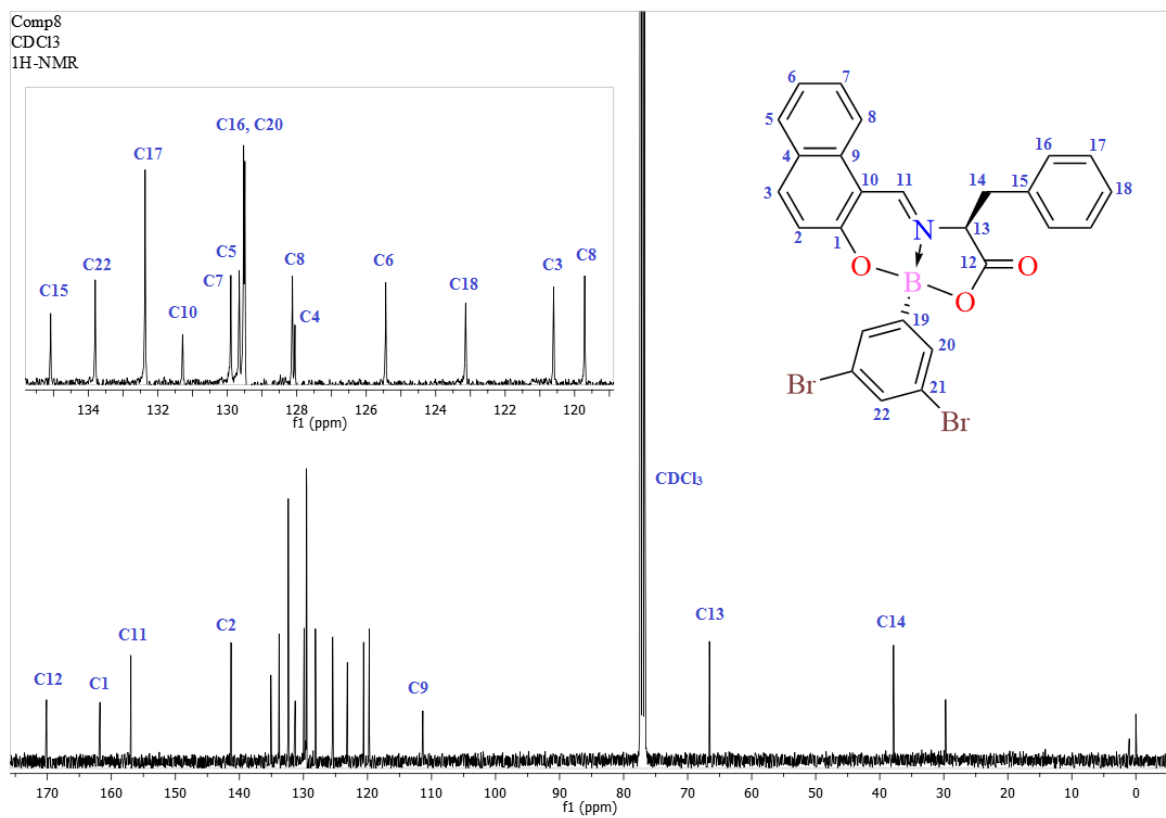


Figura 90. Espectro de RMN de ¹³C para el compuesto **8** en CDCl₃ a 100 MHz.

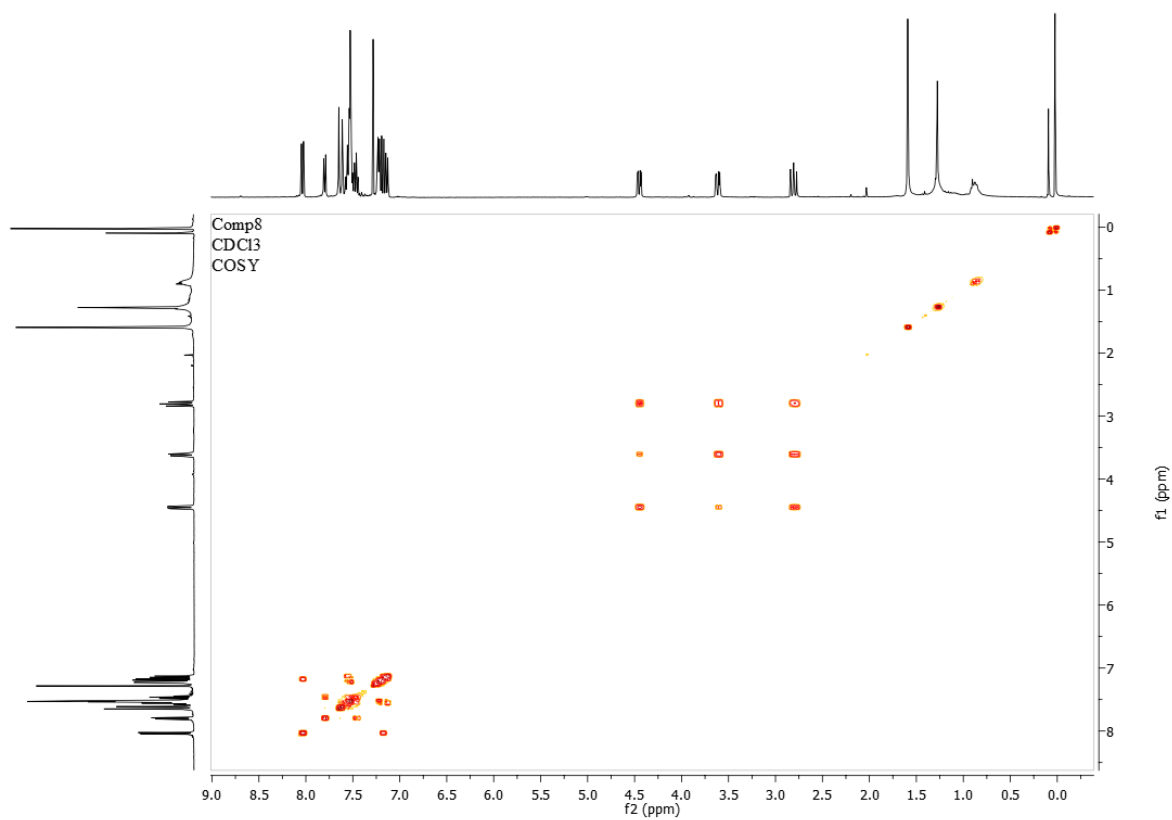


Figura 91. Espectro de COSY para el compuesto **8** en CDCl_3 .

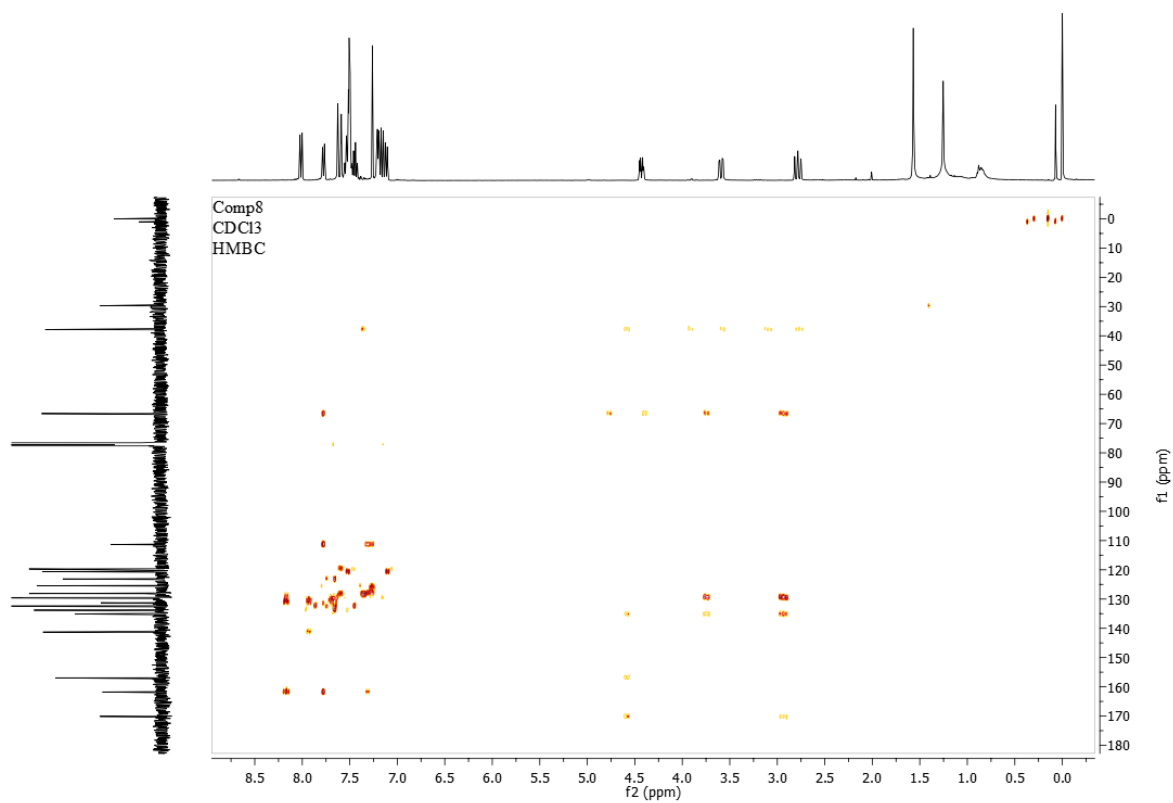


Figura 92. Espectro de HMBC para el compuesto **8** en CDCl_3 .

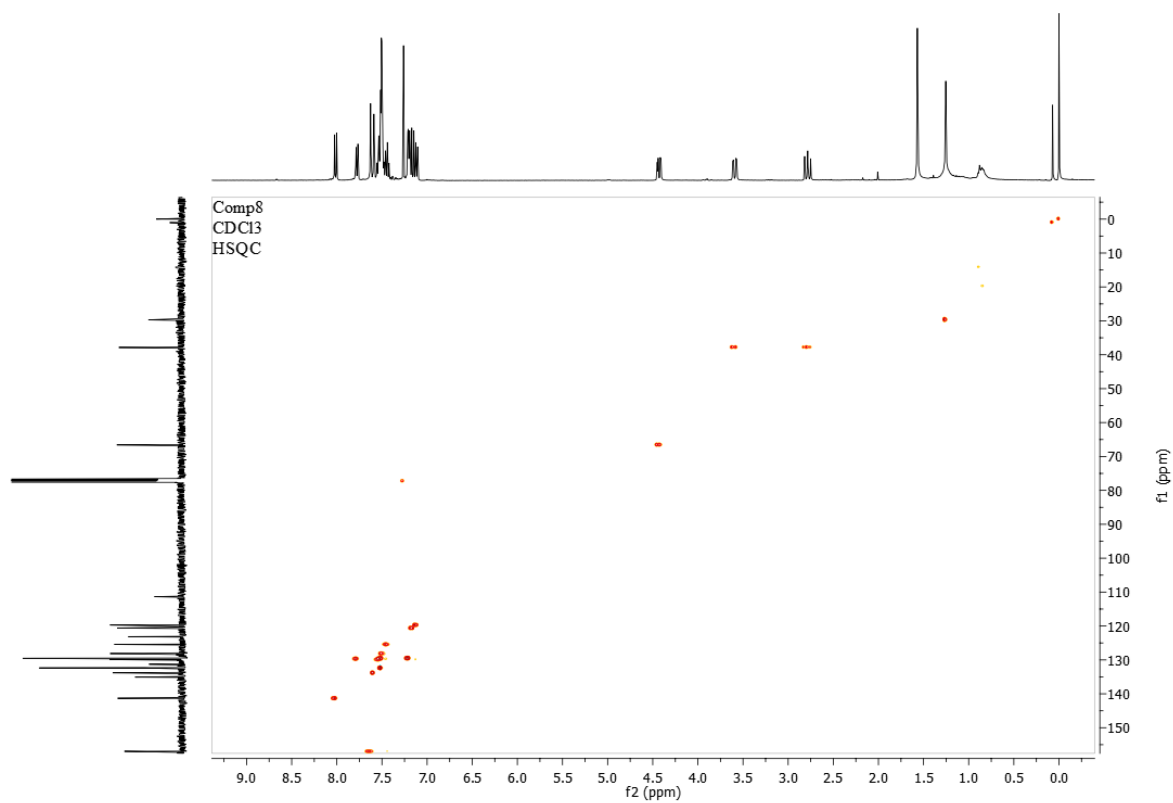


Figura 93. Espectro de HSQC para el compuesto **8** en CDCl_3 .

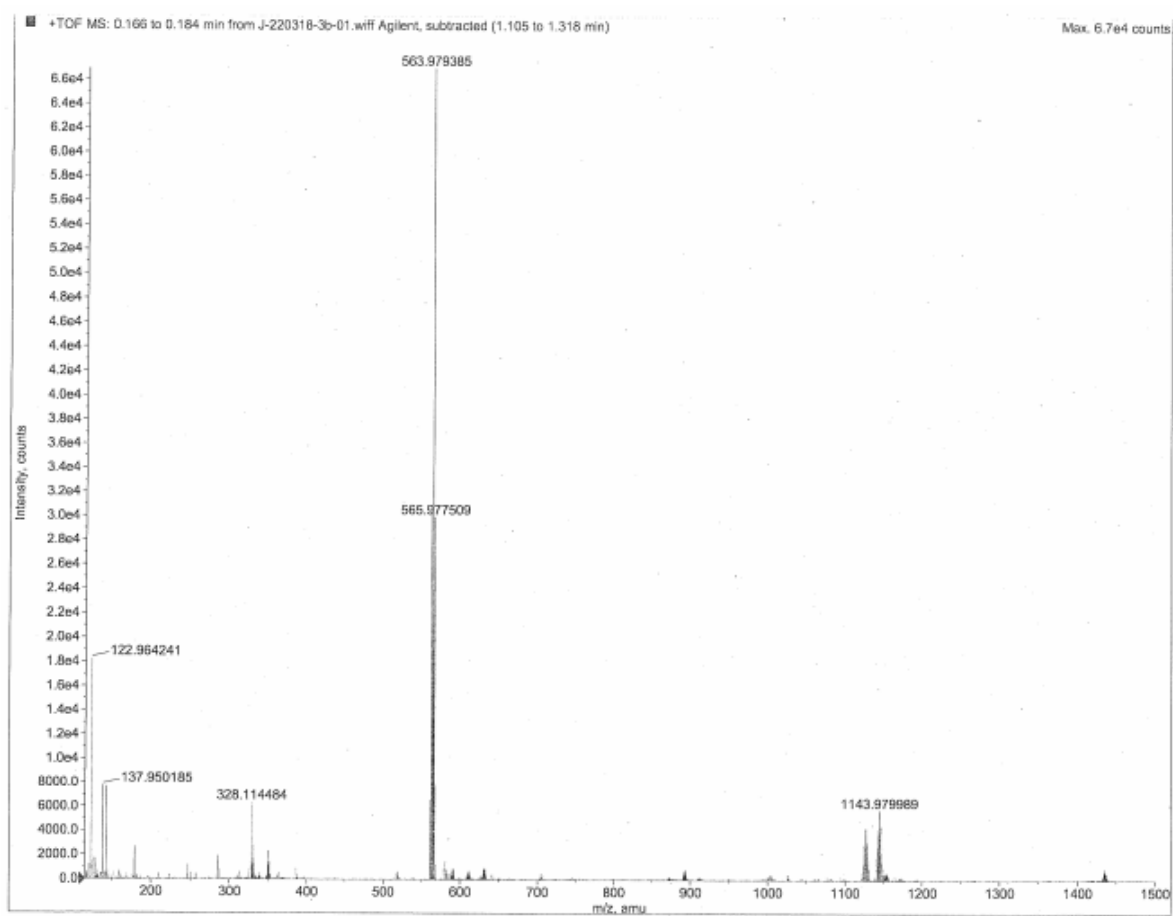


Figura 94. Espectro de masas de alta resolución para el compuesto **8**.

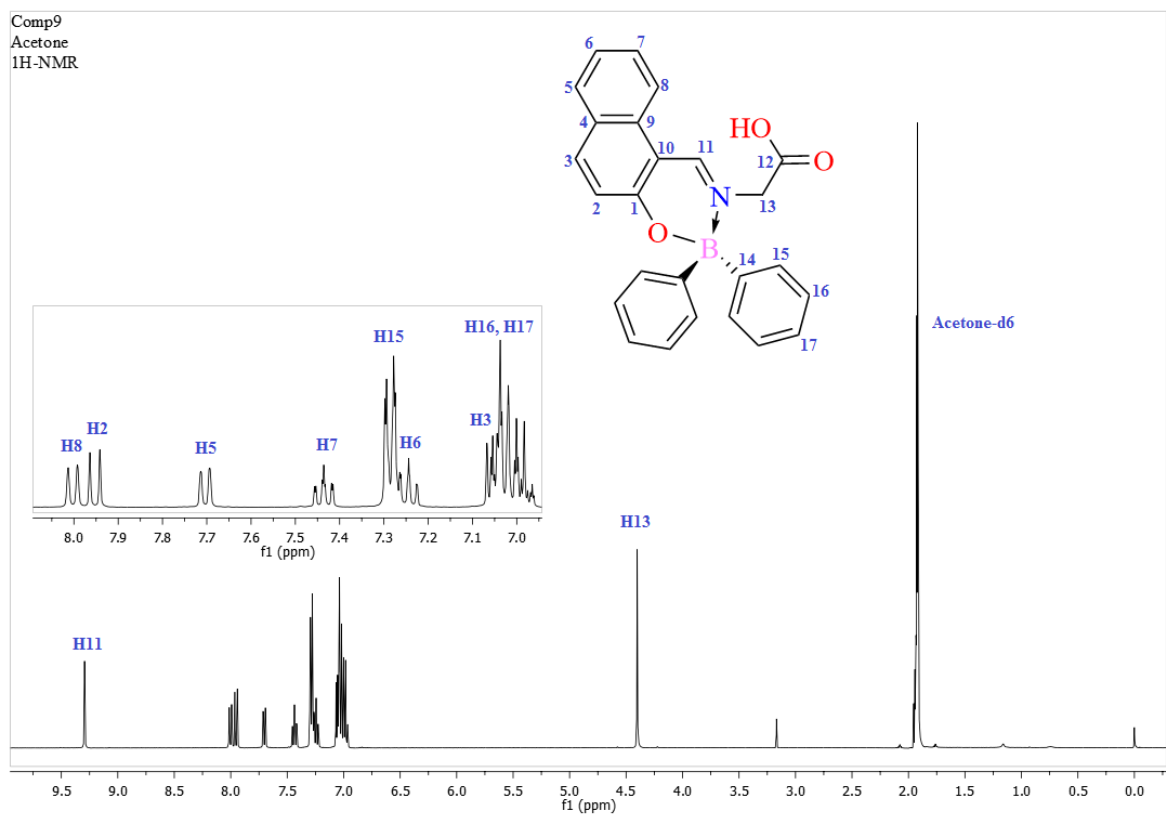


Figura 95. Espectro de RMN de ^1H para el compuesto **9** en acetona- d_6 a 400 MHz.

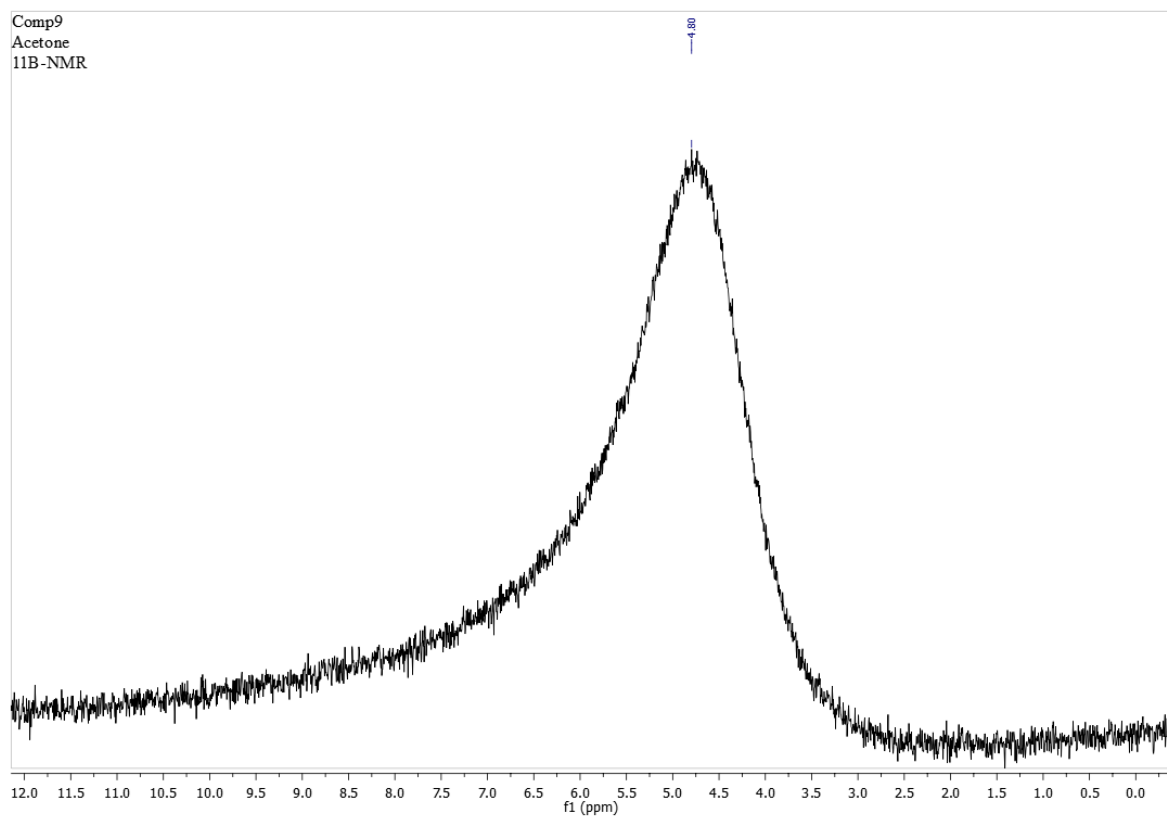


Figura 96. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **9** en acetona- d_6 a 128 MHz.

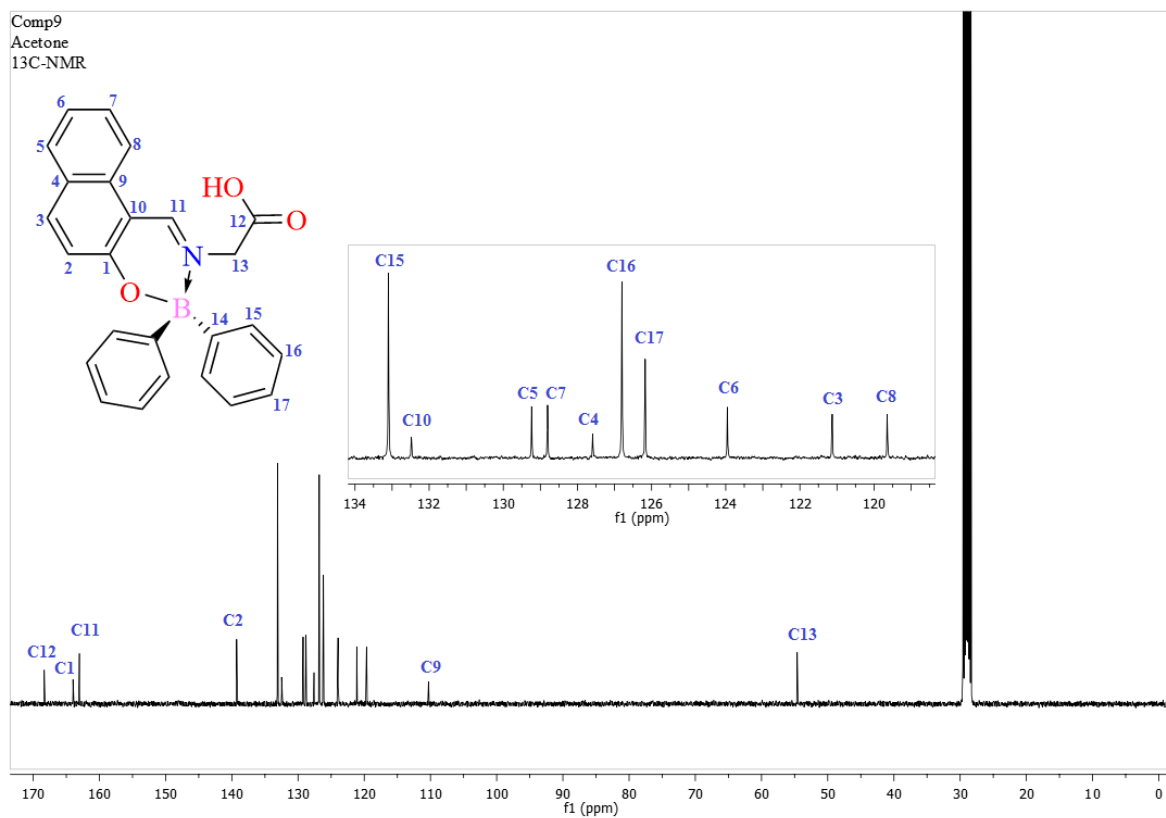


Figura 97. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **9** en acetona- d_6 a 100 MHz.

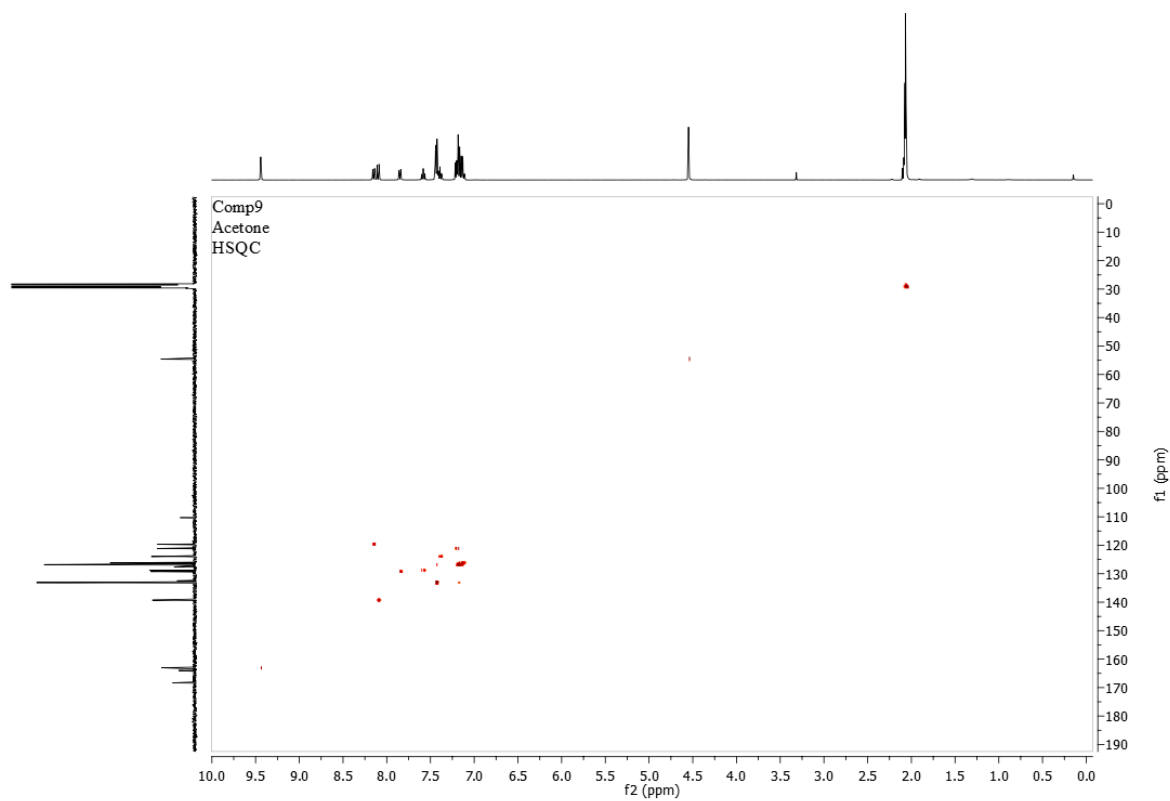


Figura 98. Espectro COSY para el compuesto **9** en acetona-d₆.

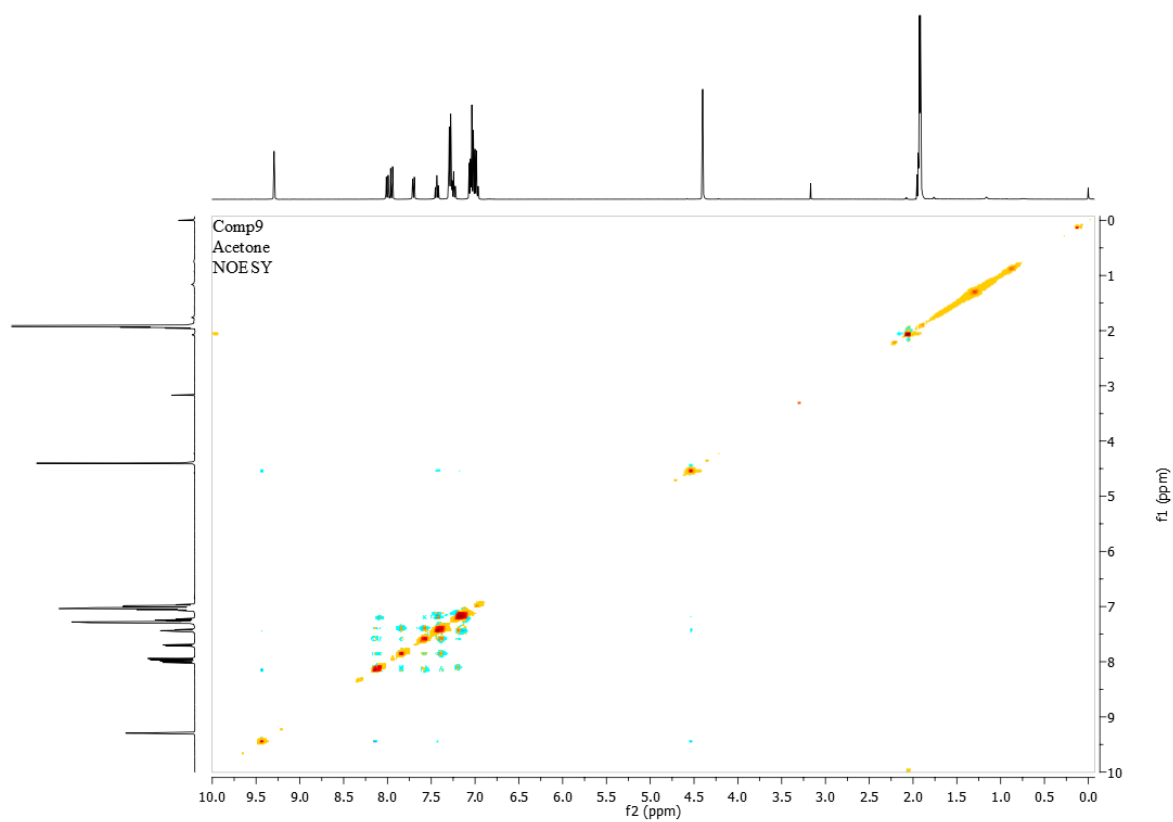


Figura 99. Espectro NOESY para el compuesto **9** en acetona-d₆.

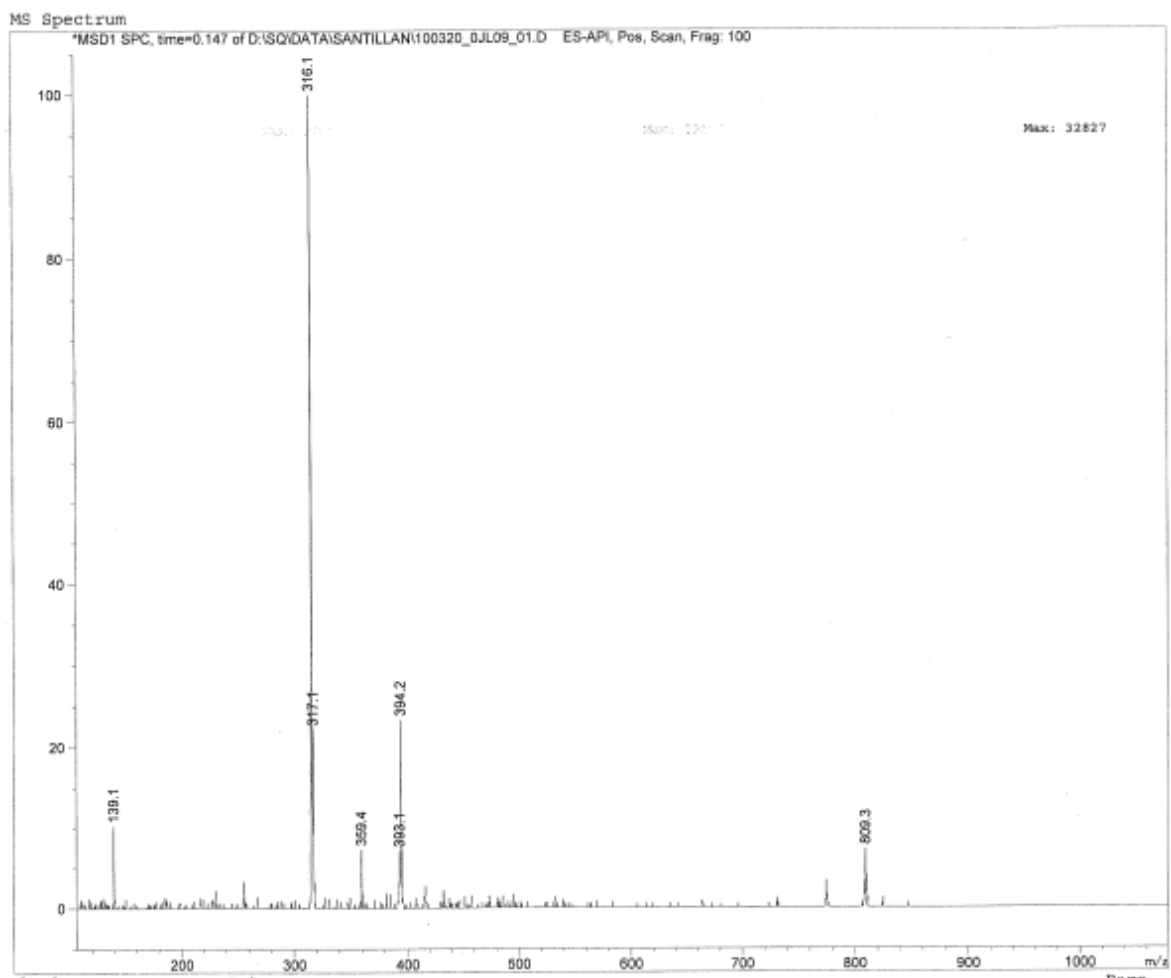


Figura 100. Espectro masas para el compuesto **9**.

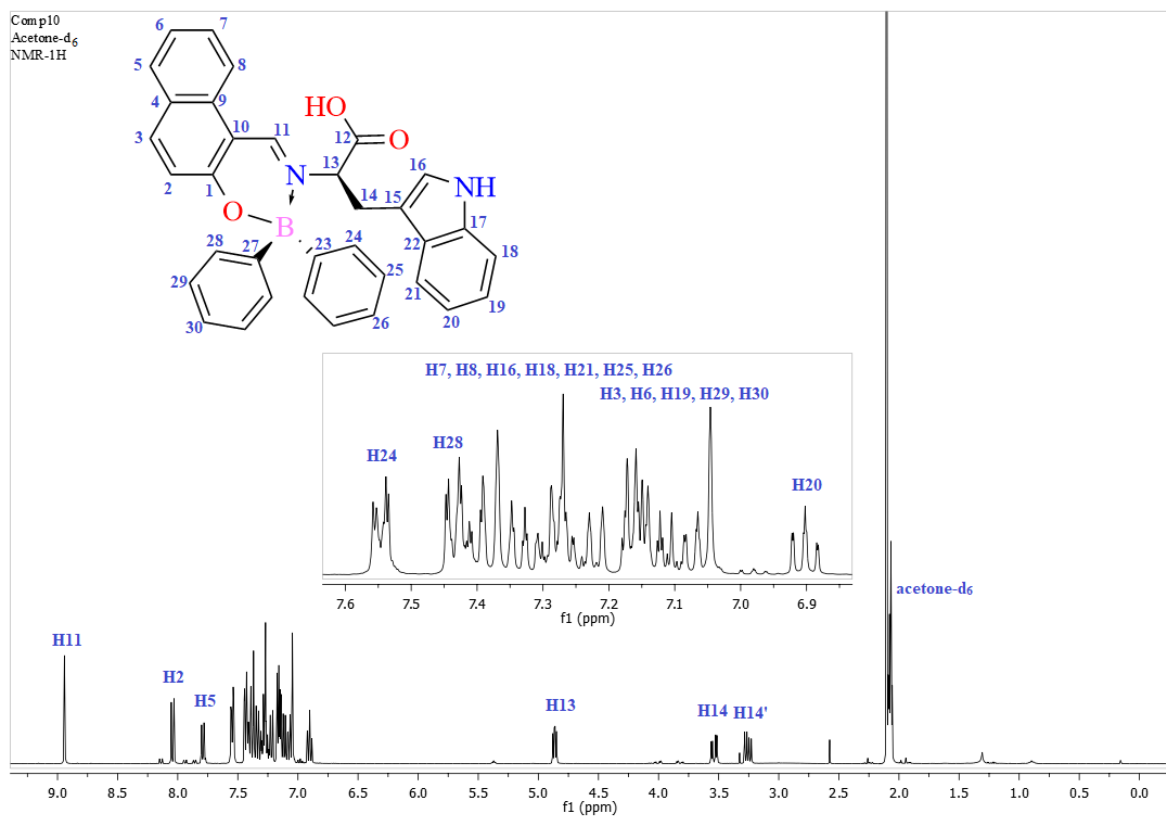


Figura 101. Espectro de RMN de ¹H para el compuesto **10** en acetona-d₆ a 400 MHz.

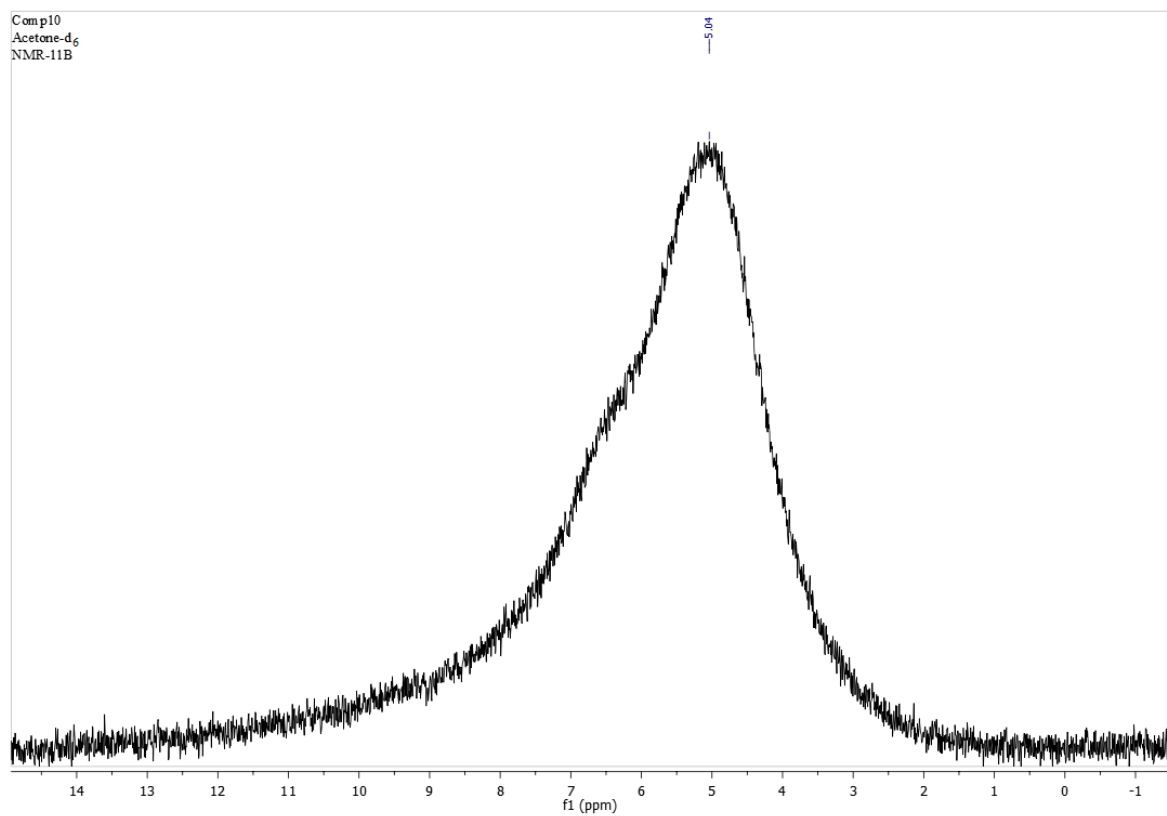


Figura 102. Espectro de RMN de ^{11}B para el compuesto **10** en acetona- d_6 a 128 MHz.

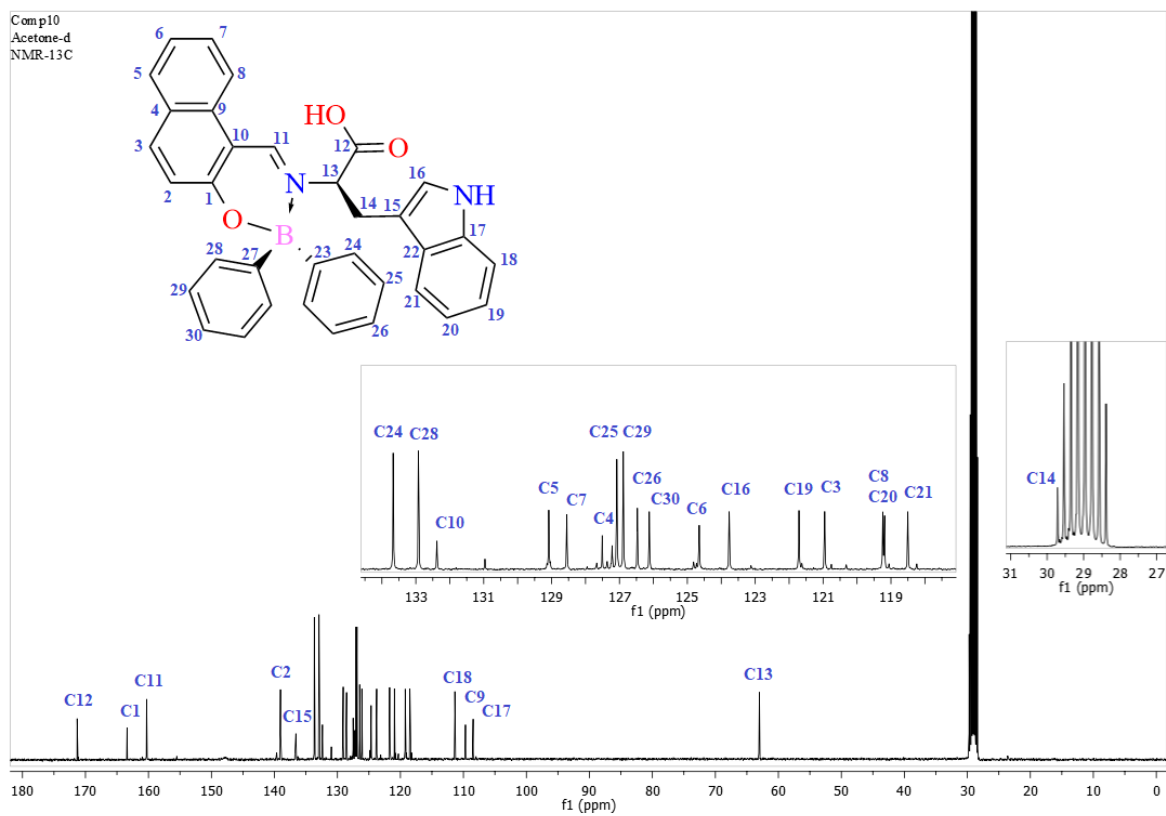


Figura 103. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **10** en acetona- d_6 a 100 MHz.

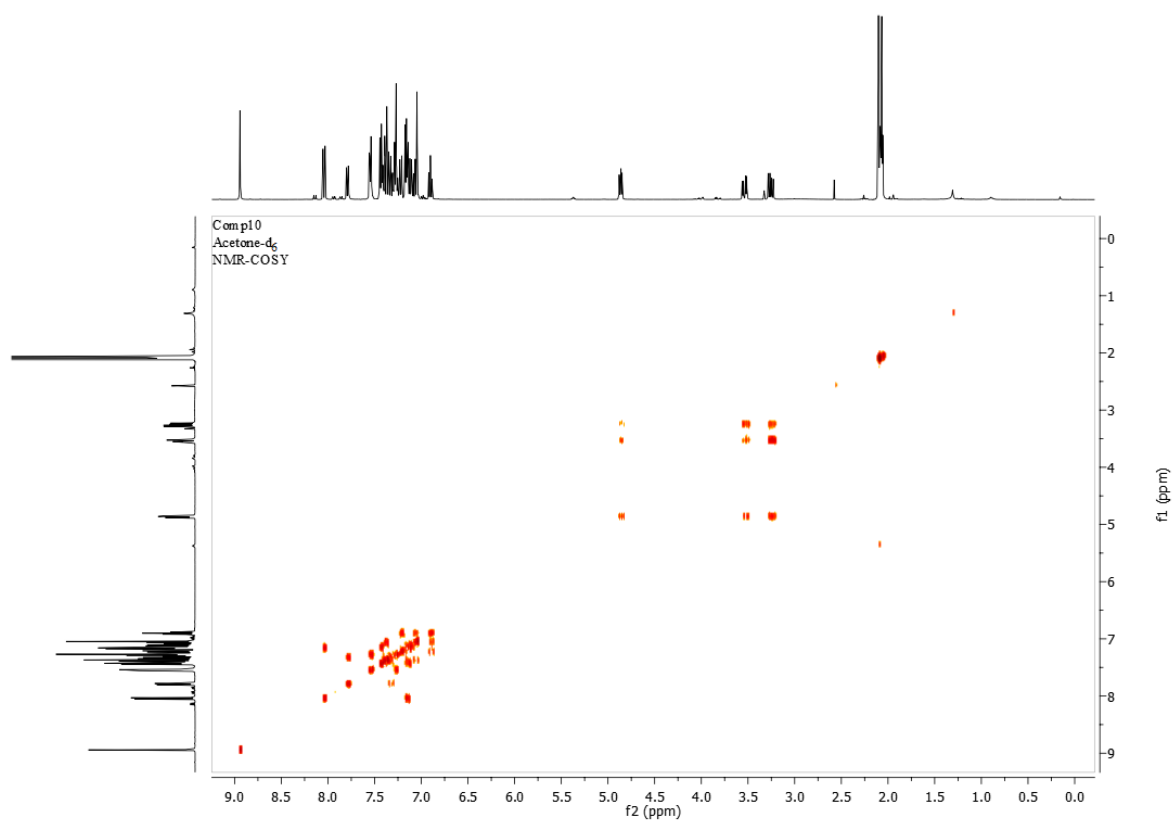


Figura 104. Espectro COSY para el compuesto **10** en acetona-d₆.

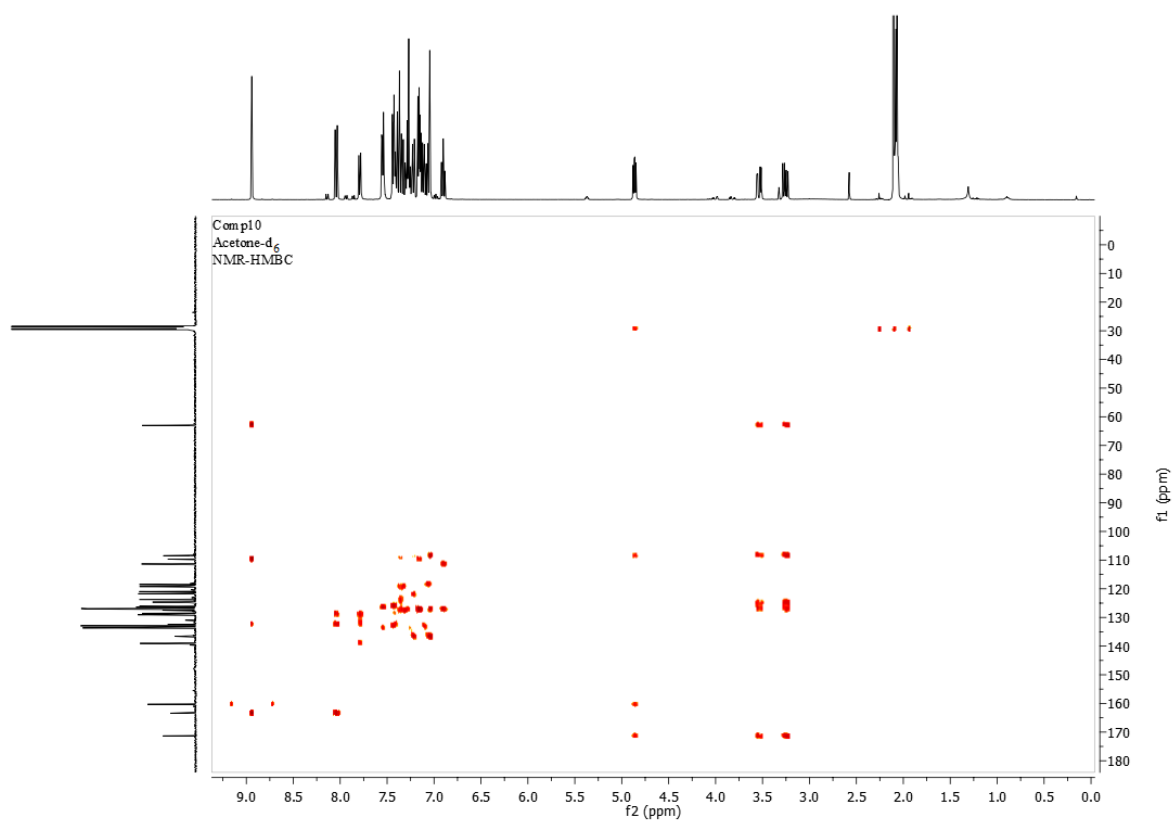


Figura 105. Espectro HMBC para el compuesto **10** en acetona-d₆.

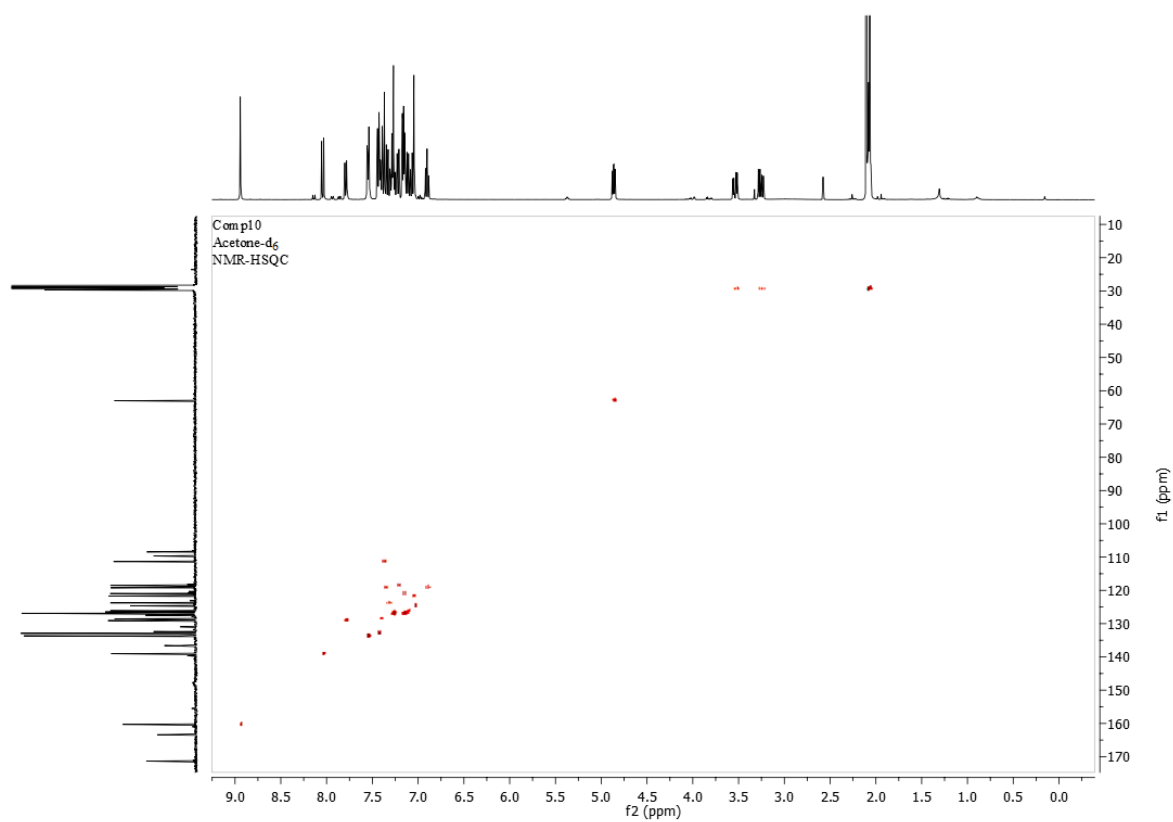


Figura 106. Espectro HSQC para el compuesto **10** en acetona- d_6 .

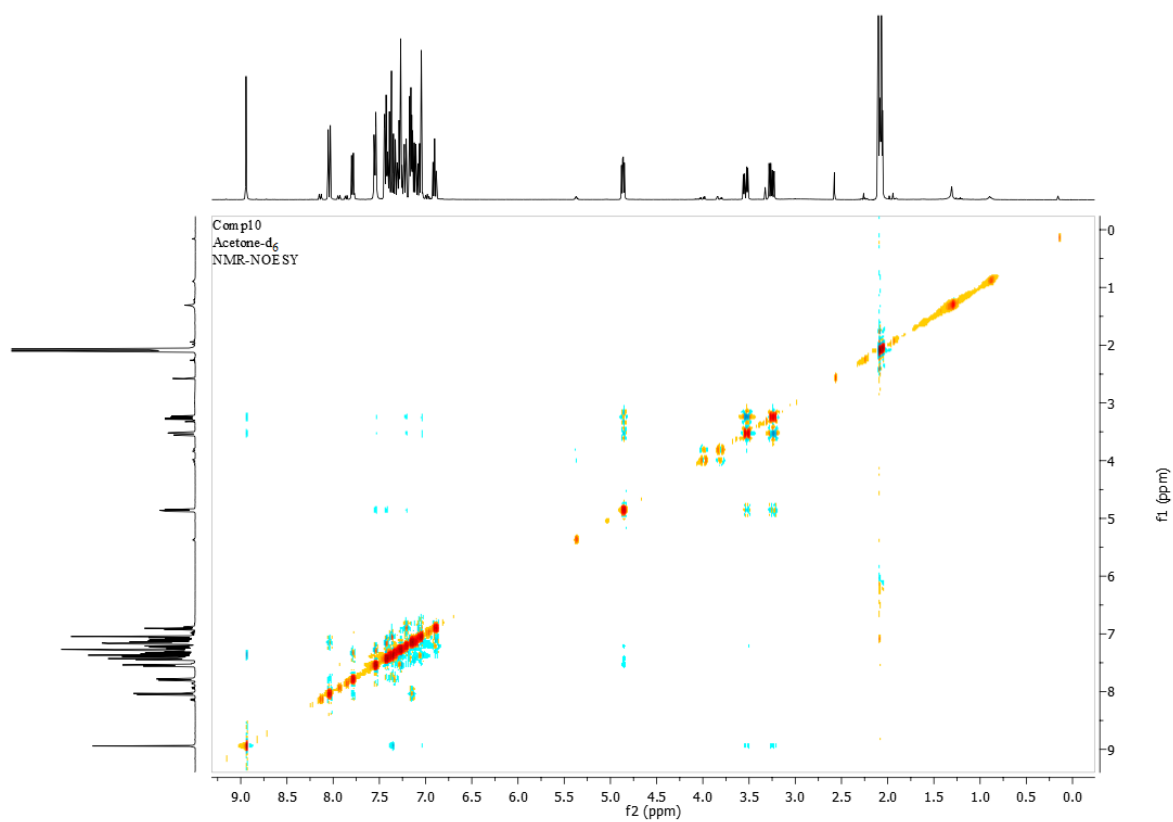


Figura 107. Espectro NOESY para el compuesto **10** en acetona- d_6 .

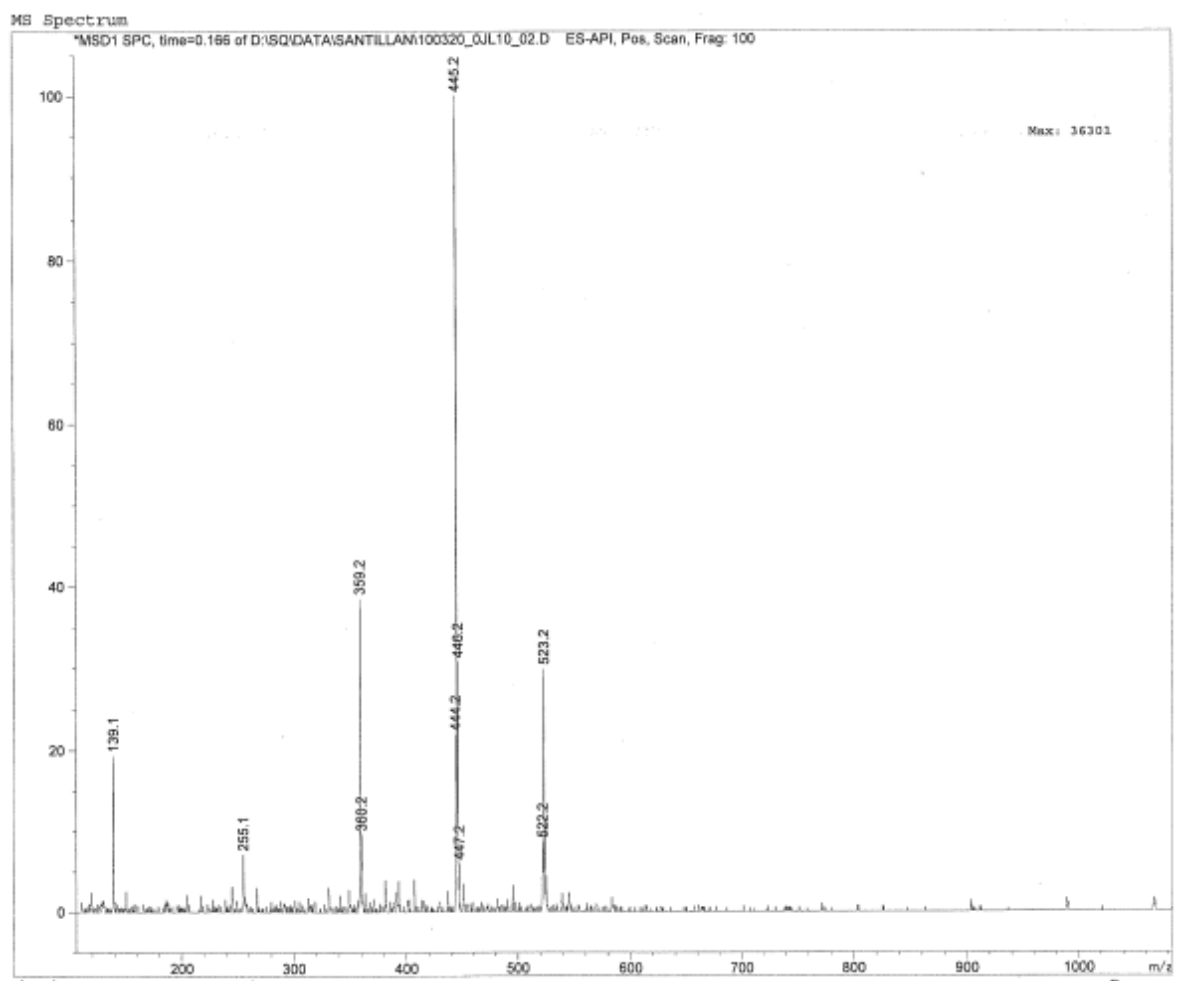


Figura 108. Espectro de masas para el compuesto 10.

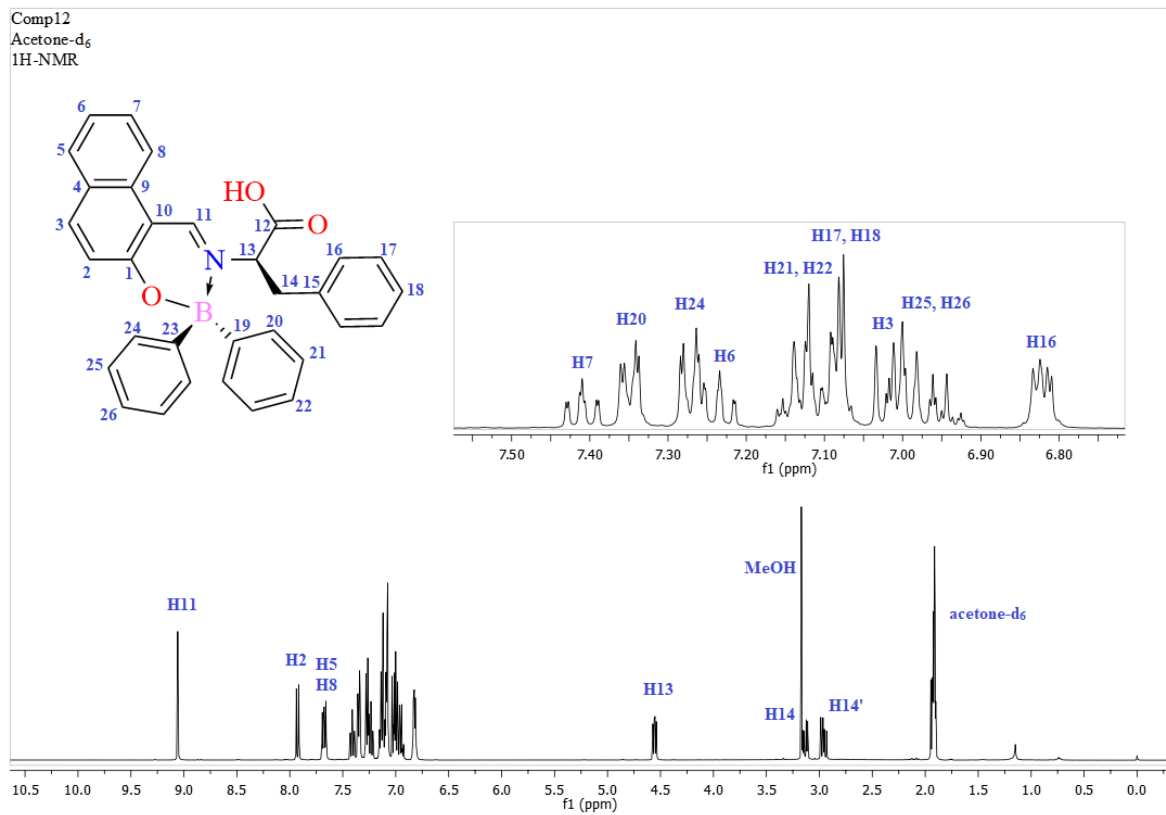


Figura 109. Espectro de RMN de ¹H para el compuesto **12** en acetona-d₆ a 400 MHz.

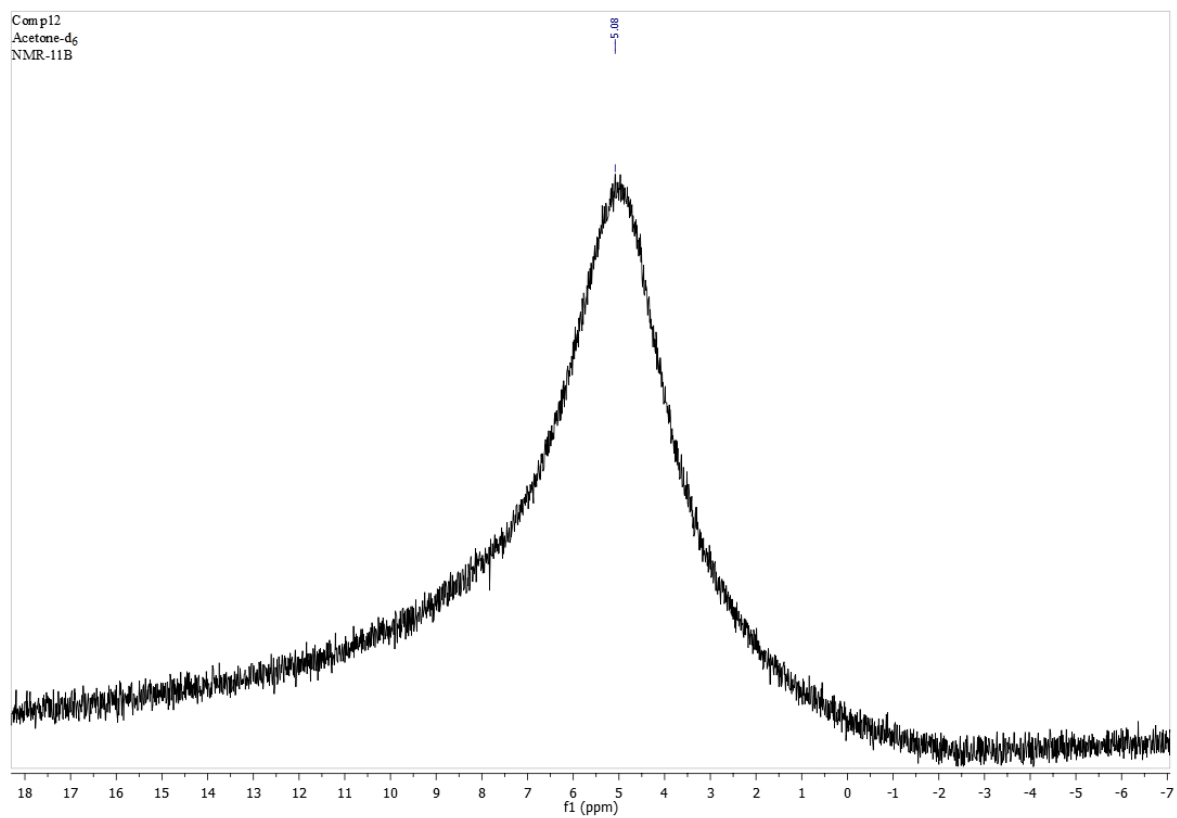


Figura 110. Espectro de RMN de ^{13}B para el compuesto **12** en acetona- d_6 a 128 MHz.

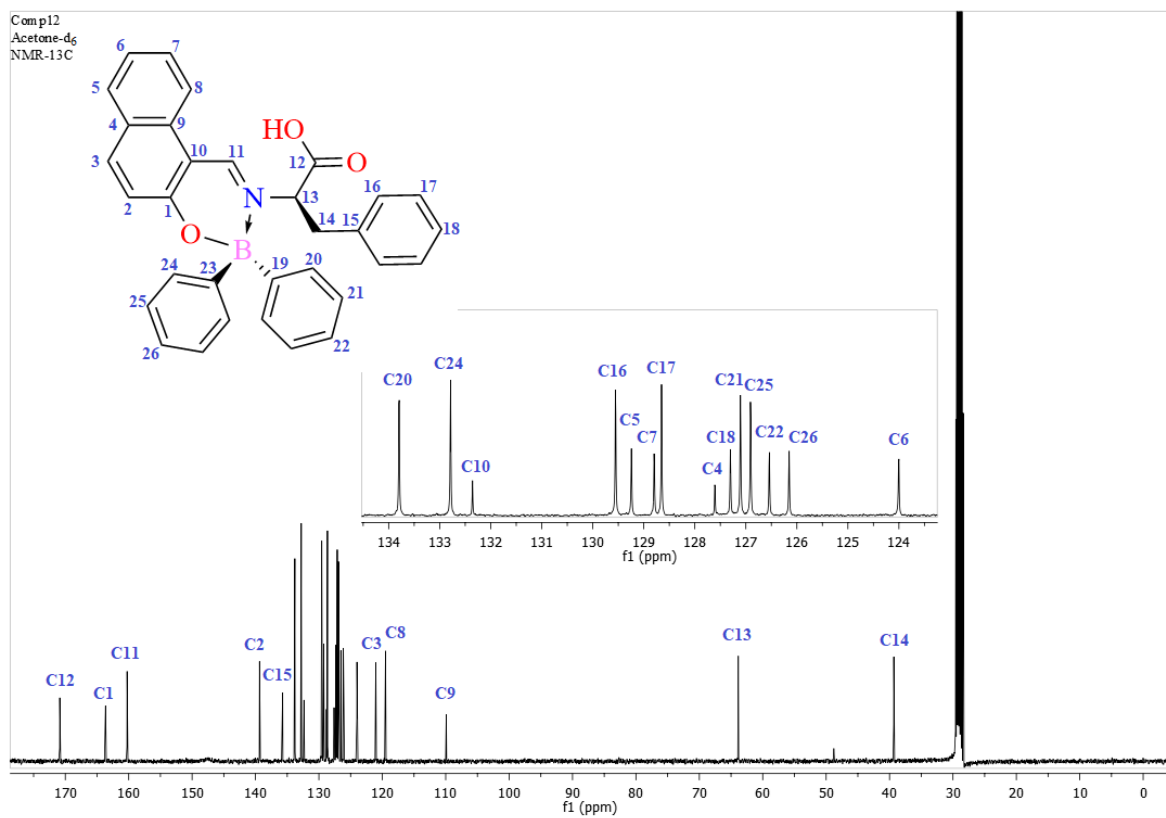


Figura 111. Espectro de RMN de ¹³C para el compuesto **12** en acetona-d₆ a 100 MHz.

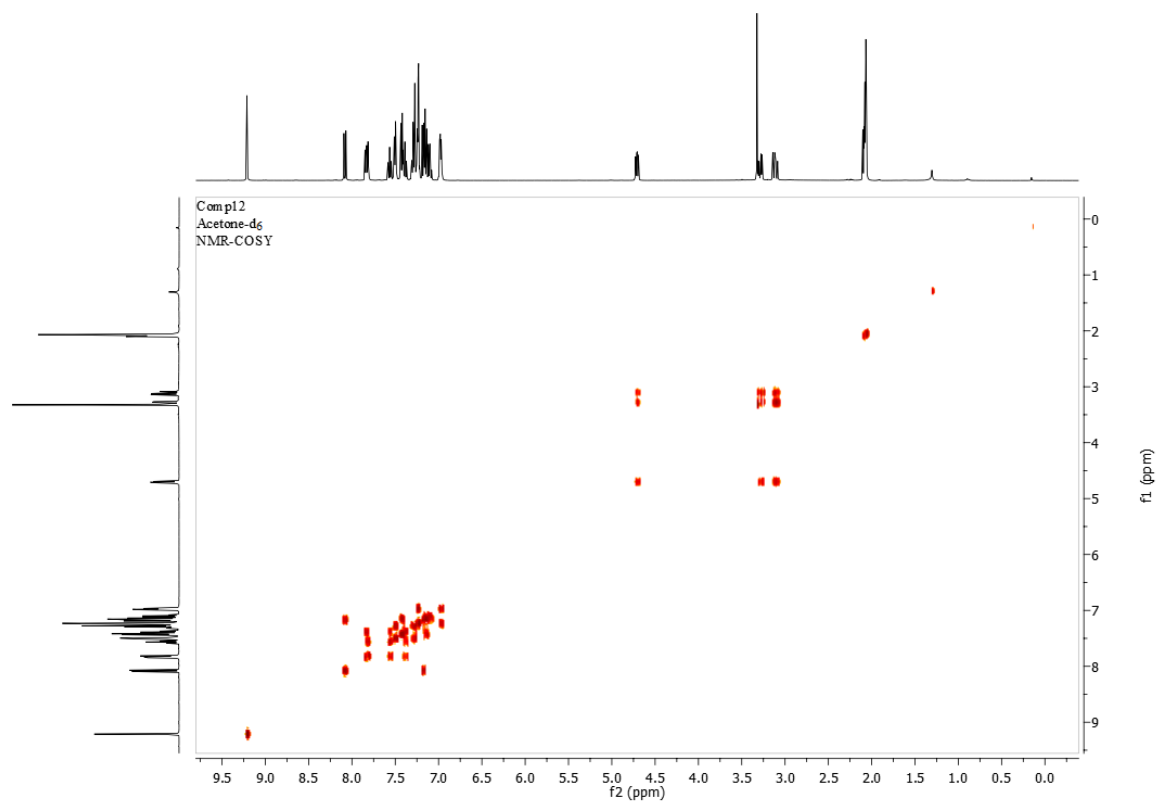


Figura 112. Espectro COSY para el compuesto **12** en acetona-d₆.

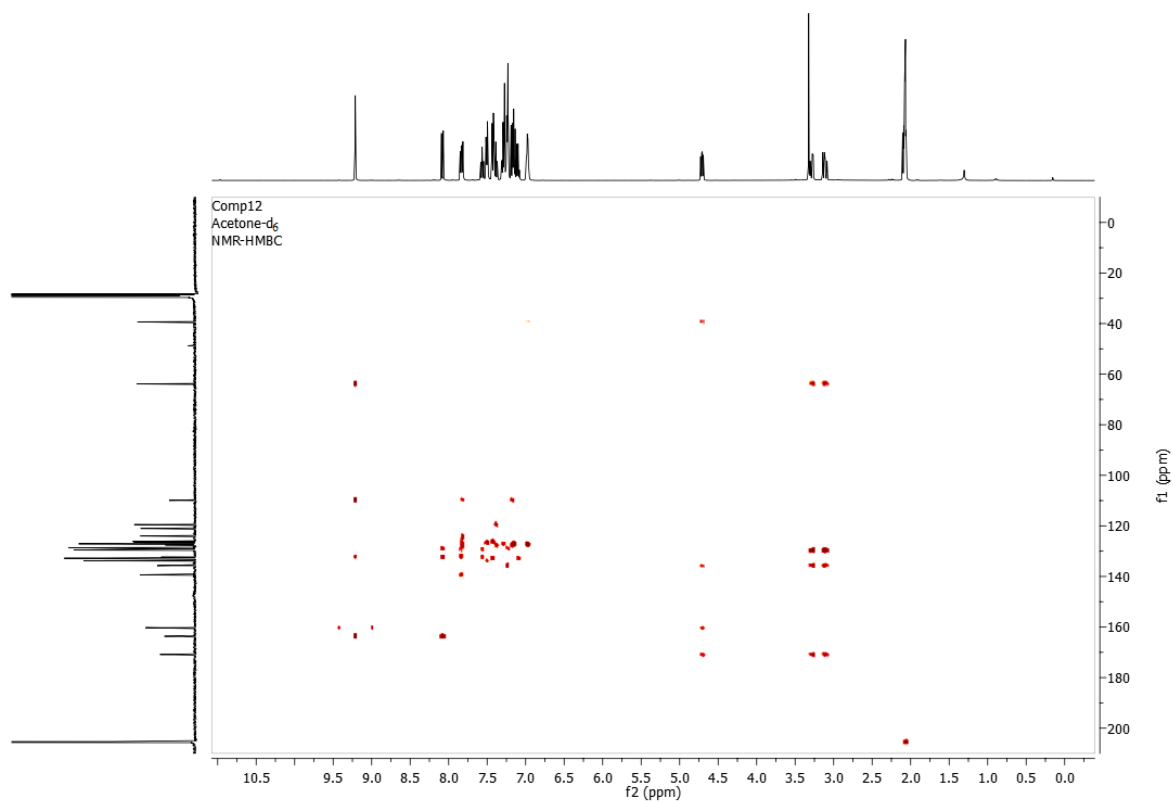


Figura 113. Espectro HMBC para el compuesto **12** en acetona-d₆.

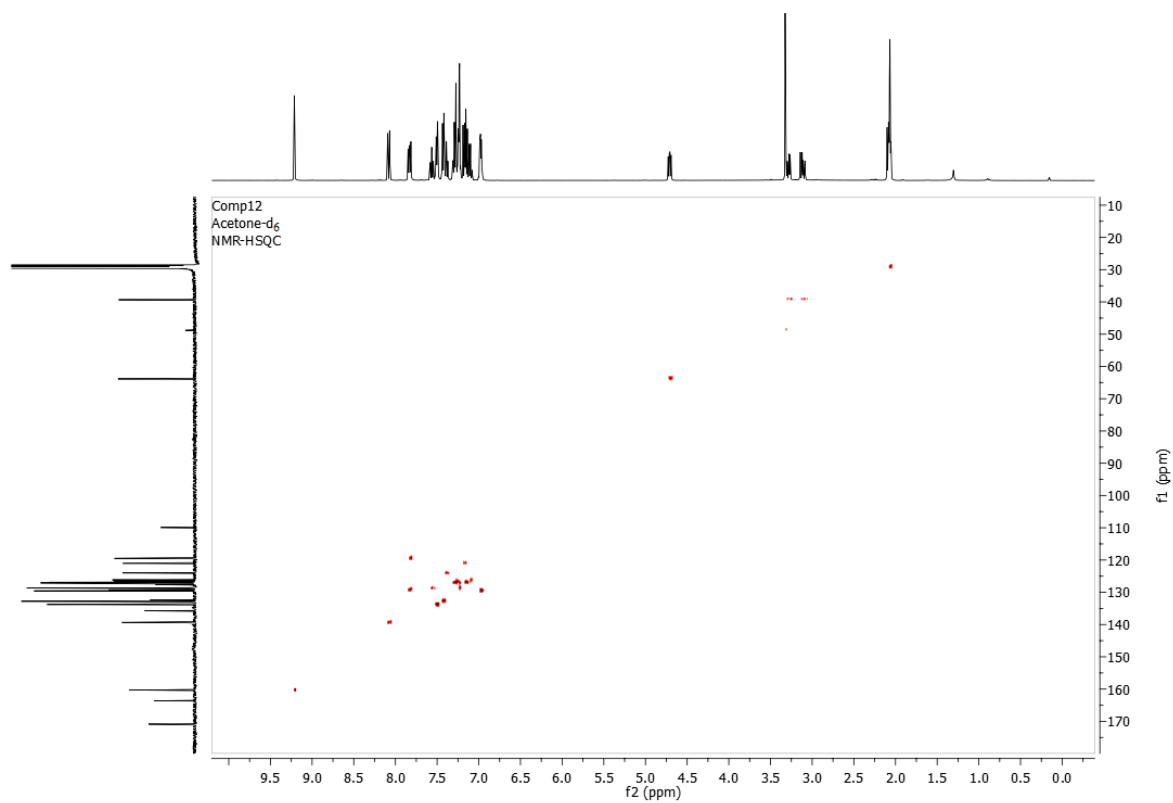


Figura 114. Espectro HSQC para el compuesto **12** en acetona-d₆.

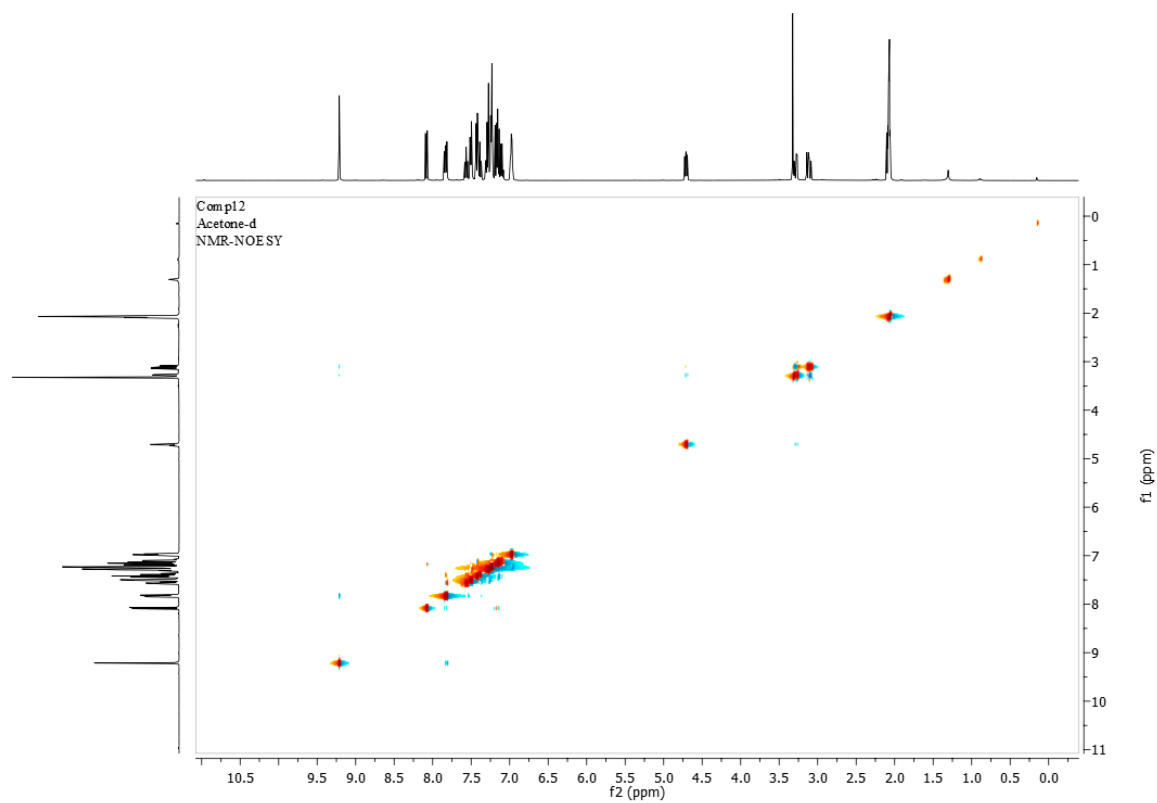


Figura 115. Espectro NOESY para el compuesto **12** en acetona-d₆.

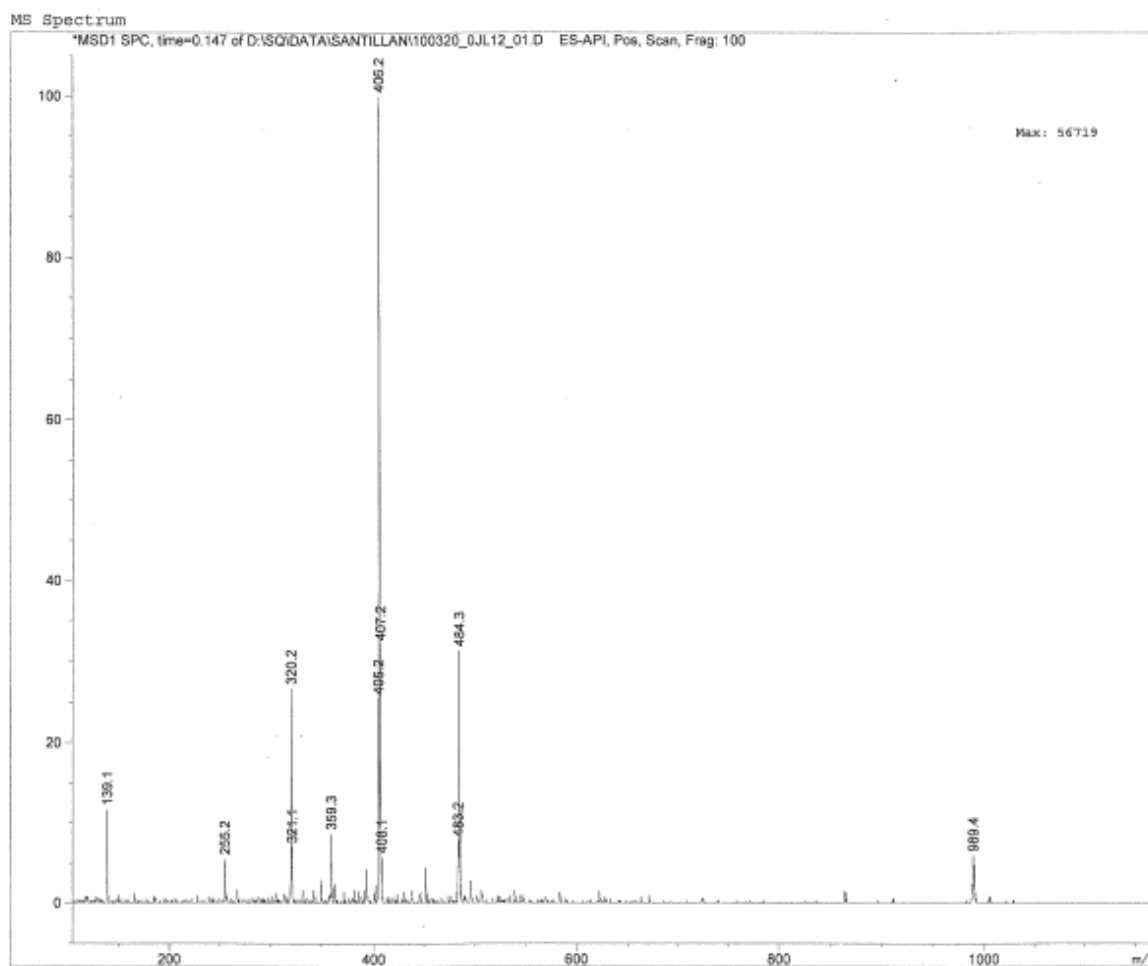


Figura 116. Espectro de masas para el compuesto **12**.

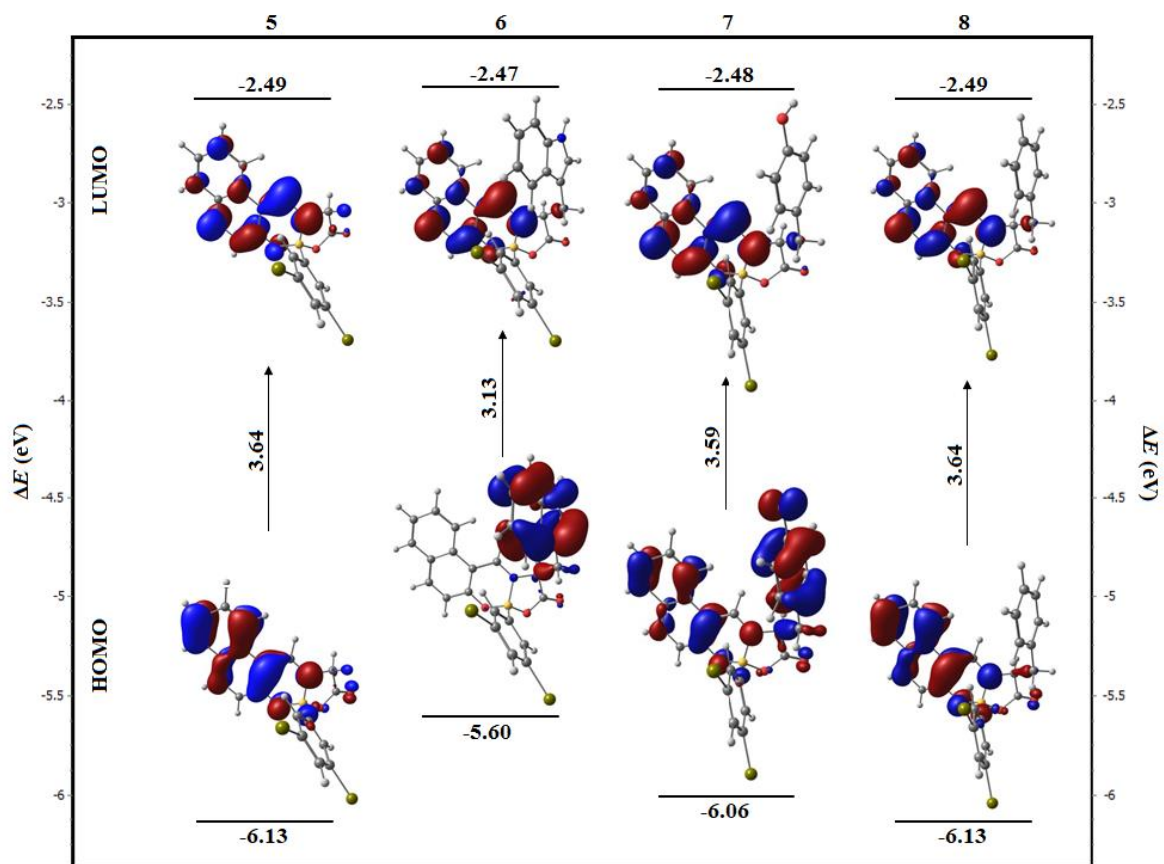


Figura 117. Diagrama de orbitales HOMO-LUMO de los compuestos 5-8.

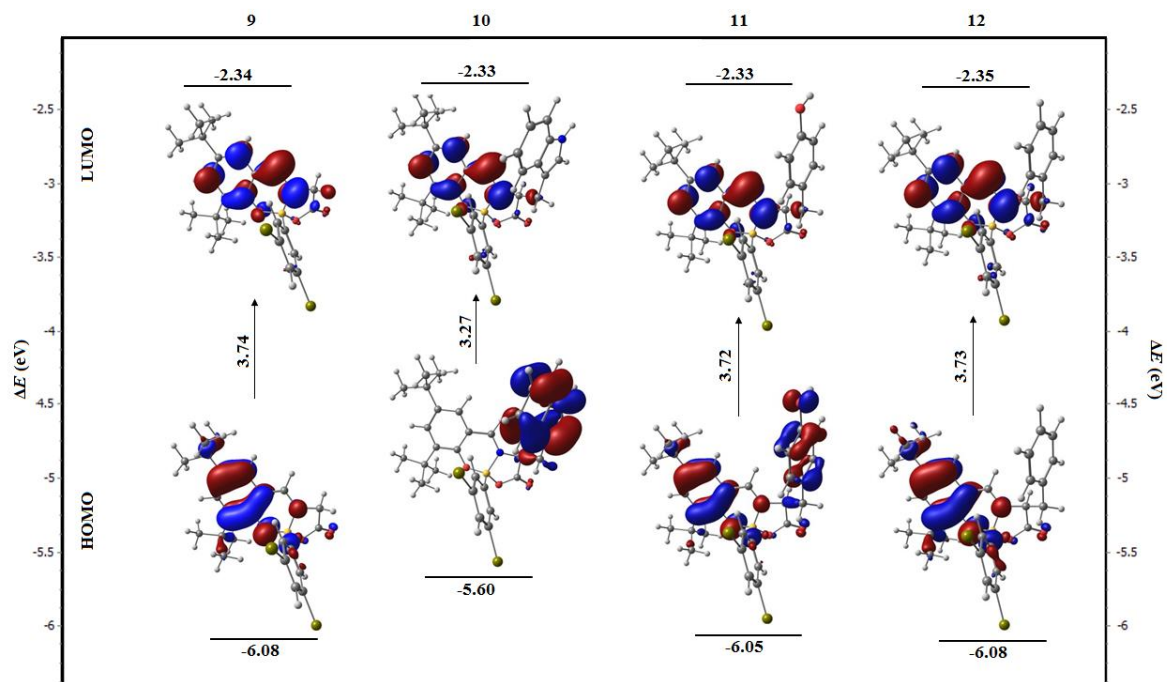


Figura 118. Diagrama de orbitales HOMO-LUMO de los compuestos 9-12.